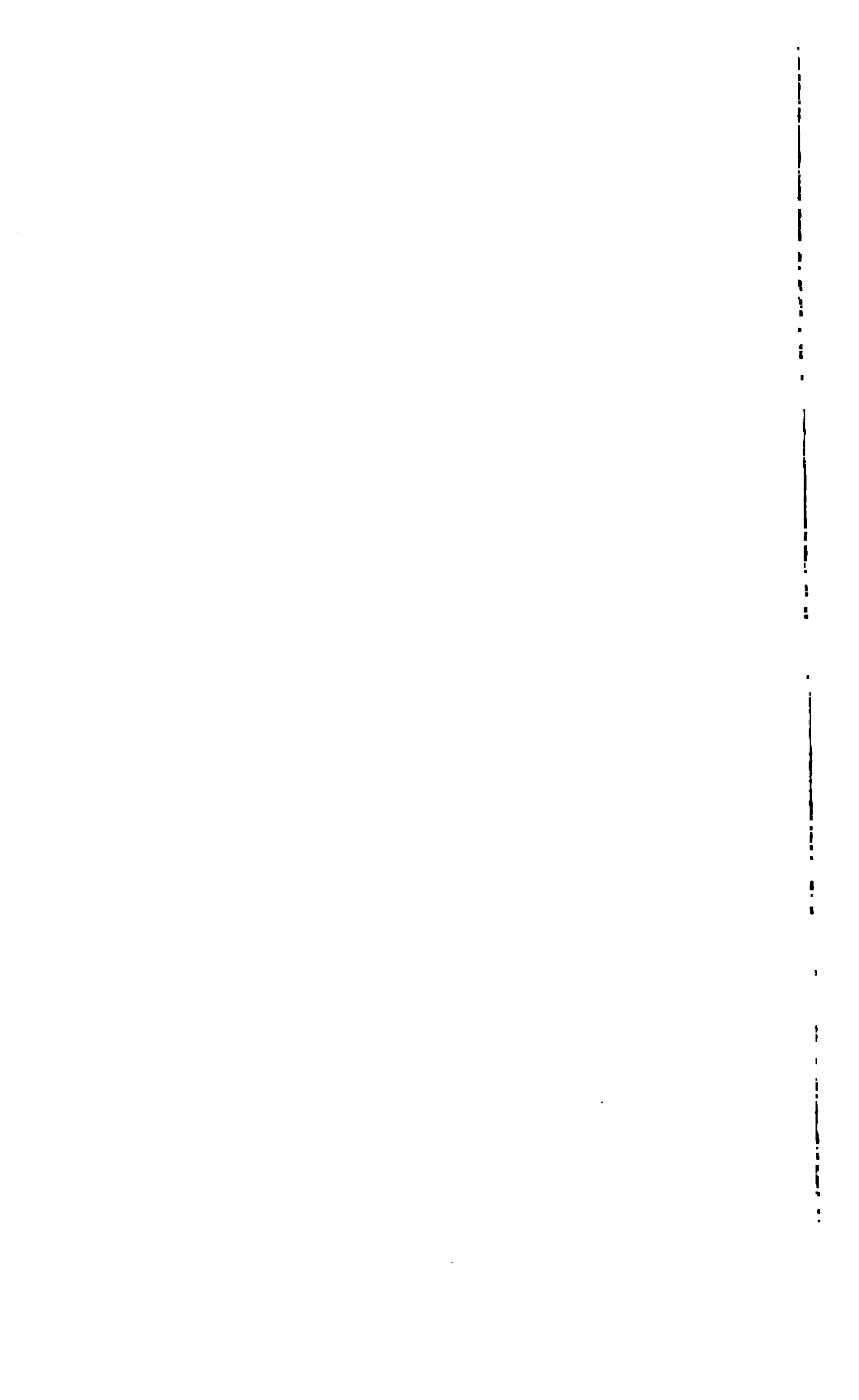
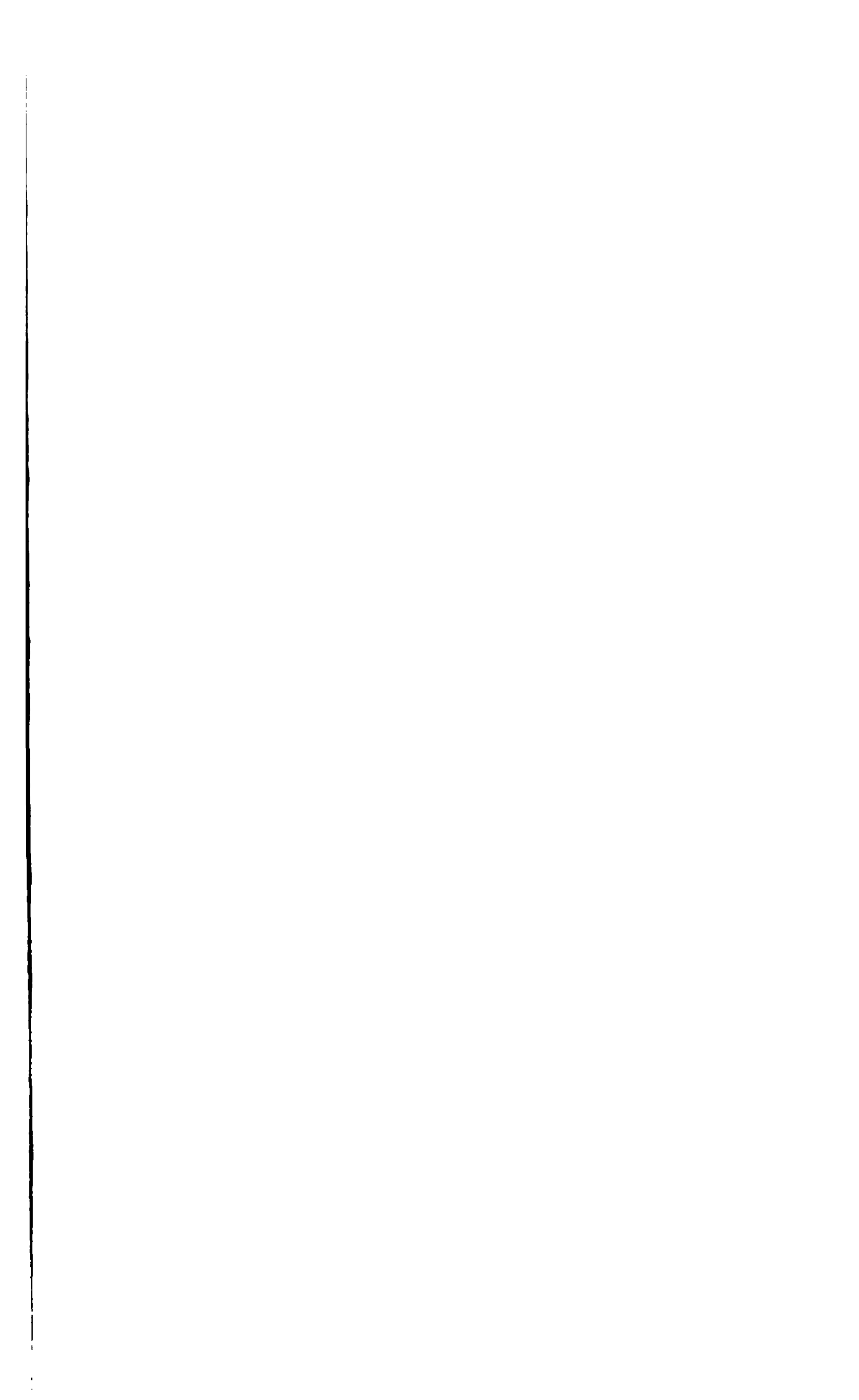
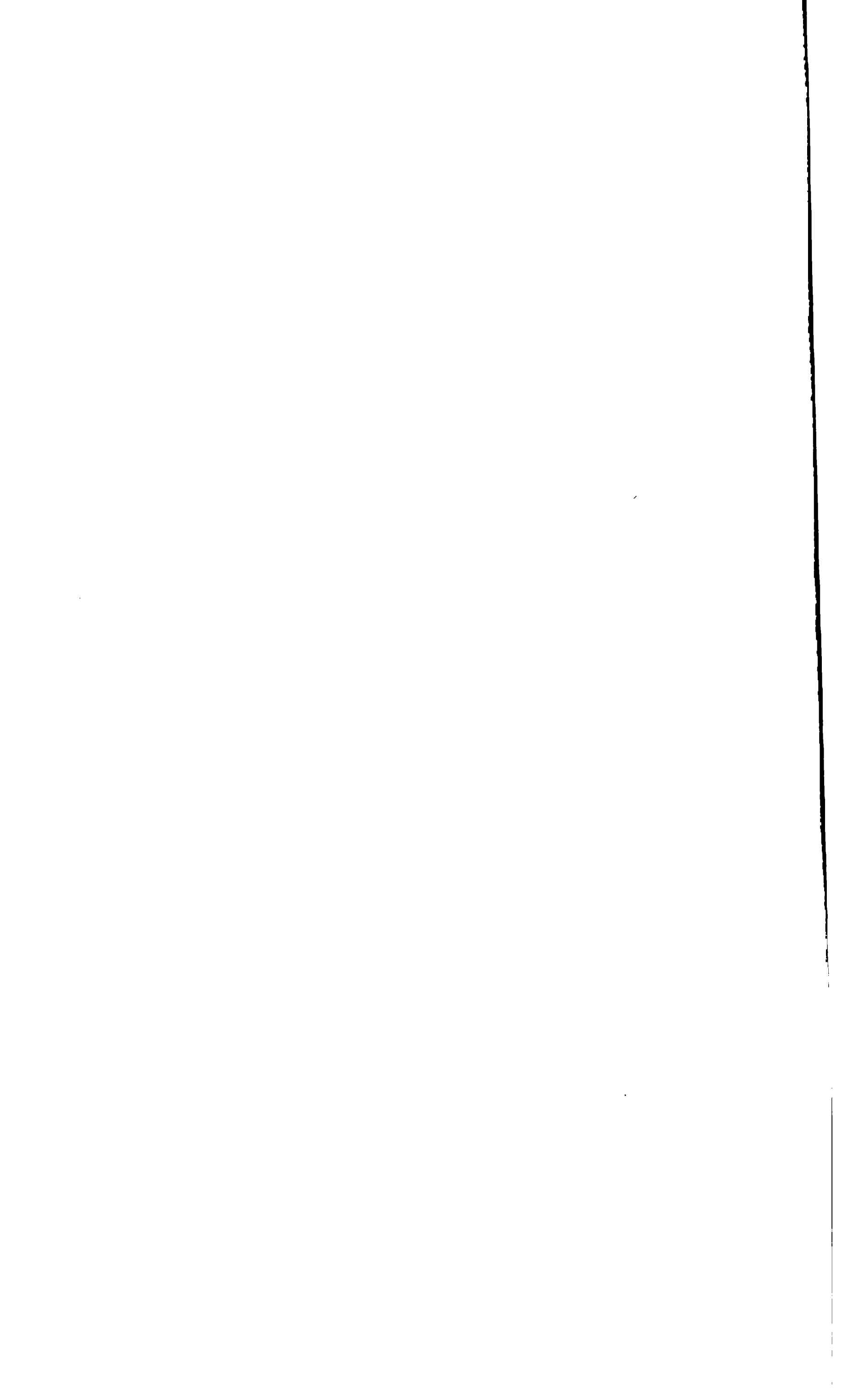
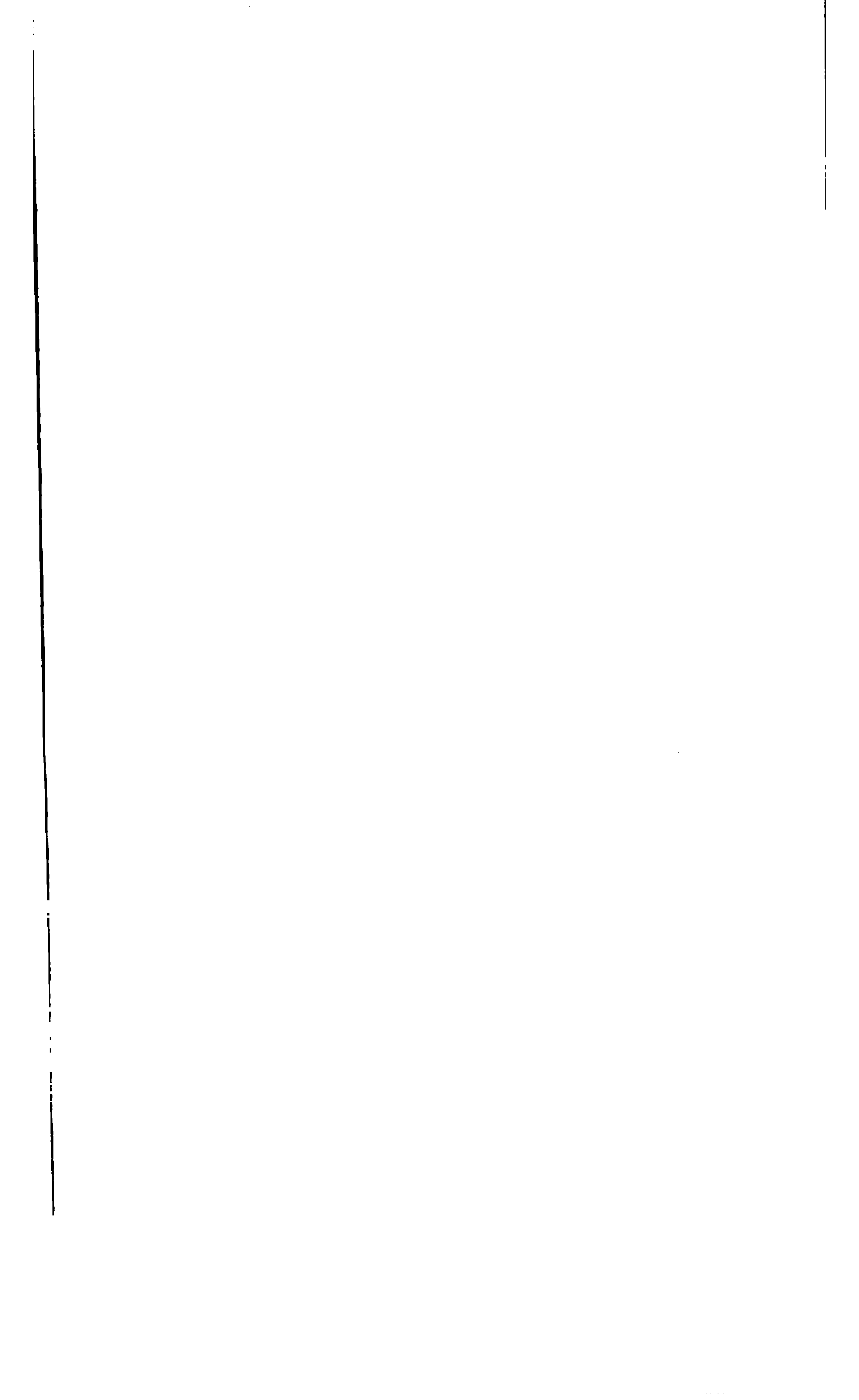
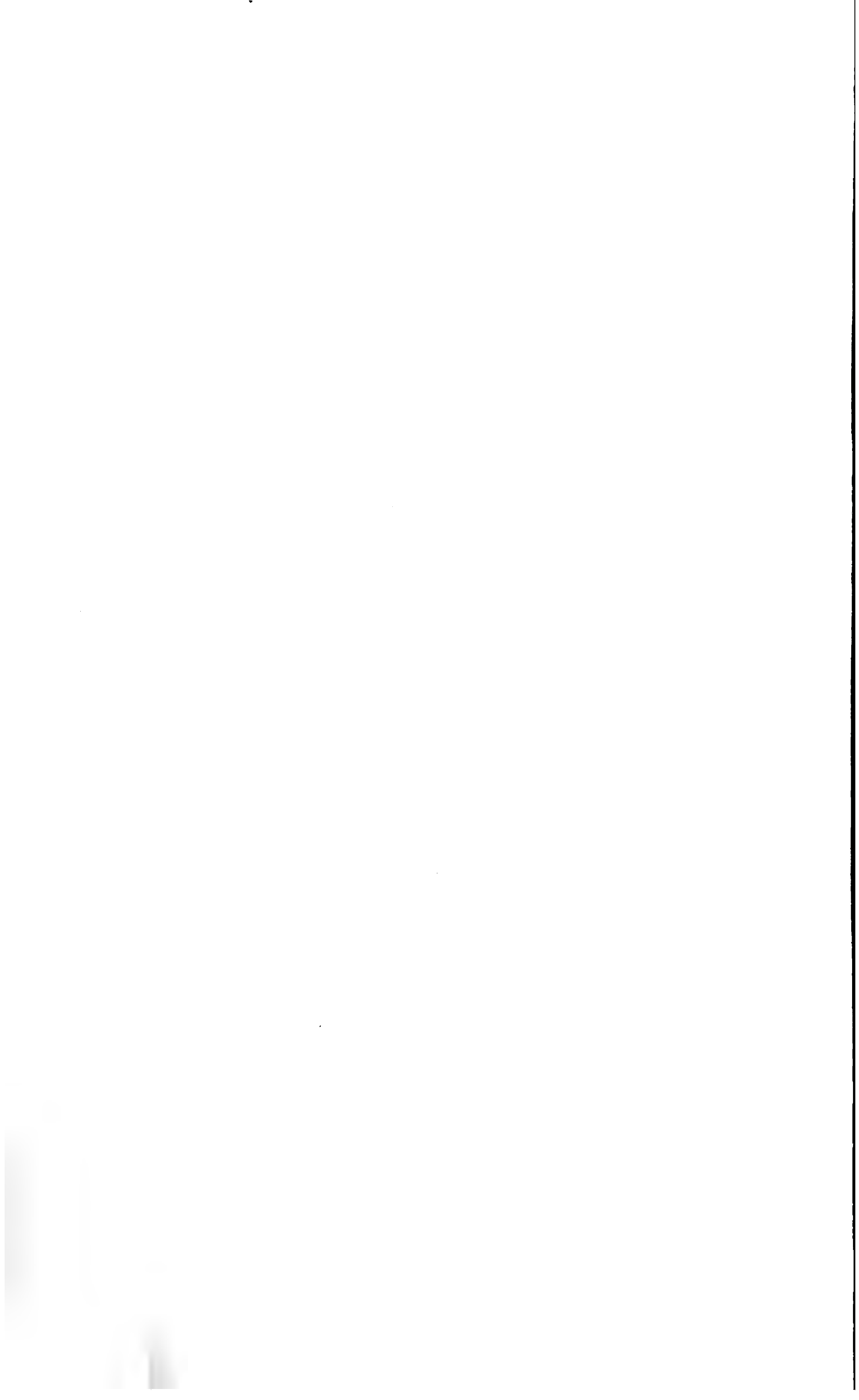












ZEITSCHRIFT

für

PHYSIOLOGISCHE CHEMIE

unter Mitwirkung von

Prof. E. BAUMANN in Freiburg, Prof. GÄHTGENS in Giessen, Prof. O. HAMMARSTEN in Upsala, Prof. HÜFNER in Tübingen, Prof. HUPPERT in Prag, Prof. JAFFE in Königsberg, Prof. E. LUDWIG in Wien, Prof. E. SALKOWSKI in Berlin und Prof. E. SCHULZE in Zürich

herausgegeben von

F. HOPPE-SEYLER,
Professor der physiologischen Chemie an der Universität Strassburg

---

DREIZEHNTER BAND.

STRASSBURG
VERLAG VON KARL J. TRÜBNER
1889.

Inhalt des dreizehnten Bandes.

Heft I und II.

Heft III.

Eine neue Methode, freie Salzsäure im Mageninhalte quantitativ zu bestimmen.

Von

John Sjöqvist.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Karolinischen Institutes zu Stockholm.)

(Der Redaction zugegangen am 2. Juni 1888.)

Dem practisirenden Arzte ist es oft wichtig, die freie Salzsäure des Mageninhaltes genau bestimmen zu können, und aus diesem Grunde sind von Zeit zu Zeit neue Methoden zur Bestimmung derselben mitgetheilt worden. Mehrere geben gute Resultate, fast alle aber leiden an dem Fehler, dass die Zeit es dem practisirenden Arzte nicht erlaubt, sie auszuführen.

Die älteste Methode ist die von Bidder und Schmidt[1]) angegebene, mit welcher sie bewiesen, dass freie Salzsäure physiologisch im Magen vorhanden ist. Gegen diese Methode kann man keine andere Einwendung machen, als die, dass der Arzt nicht die Zeit hat, sie auszuführen; ausserdem fordert sie den Zutritt zu einem chemischen Laboratorium und Uebung in analytischen Arbeiten.

Nach Rabuteau's Methode, in ihrer von Cahn und v. Mering modificirten Form[2]), verfährt man auf folgende Weise: 50 cbcm. des filtrirten Mageninhaltes werden vorsichtig bis auf 10 cbcm. abdestillirt. Flüchtige, fette Säuren sind dann verflüchtigt. Der Rückstand wird sechs bis acht Mal mit je 300 cbcm. Aether geschüttelt, welcher die Milchsäure in sich aufnimmt. Der Rückstand nach dem Schütteln mit Aether wird mit eben ausgefälltem Cinchonin versetzt, damit bei gelindem Erwärmen bis auf neutrale Reaction digerirt, in

[1]) Die Verdauungssäfte und der Stoffwechsel. Mitau u. Leipzig, 1852.
[2]) Deutsches Archiv für klinische Medicin, Bd. 39, S. 239.

einen Scheidetrichter mit Chloroform gespült und dann vier bis fünf Mal mit je 200 cbcm. Chloroform geschüttelt. Das gebildete salzsaure Cinchonin wird vom Chloroform aufgenommen. Man destillirt das Chloroform ab und berechnet nach der Chlormenge im Rückstande den ursprünglichen Salzsäuregehalt. Diese Methode giebt befriedigende Resultate, fordert aber viel Zeit.

Eine andere von Cahn und v. Mering angegebene Methode[1]) führt man folgendermaassen aus: 50 cbcm. filtrirter Mageninhalt werden über freiem Feuer erhitzt, bis an drei Viertel verflüchtigt sind, wonach man den Rückstand mit Wasser auf 50 cbcm. verdünnt und auf's Neue drei Viertel davon abdestillirt. Im Destillate werden flüchtige fette Säuren durch Titrirung bestimmt. Der Rückstand wird sechs Mal mit je 500 cbcm. Aether geschüttelt, der Aether wird abdestillirt und im Rückstande die Milchsäure durch Titrirung bestimmt. Im Rückstande nach dem Schütteln mit Aether findet sich die Salzsäure und dieselbe kann gleichfalls durch Titrirung bestimmt werden. Die Methode giebt eine gute Kenntniss der verschiedenen Säuren des Mageninhaltes; doch beansprucht sie ebenfalls viel Zeit und für jede Bestimmung drei Liter Aether.

Seemann[2]) hat vorgeschlagen, eine von Hehner[3]) angegebene Methode anzuwenden, welche ursprünglich zur Bestimmung von Mineralsäuren in Essig abgesehen war. Eine abgemessene, filtrirte Menge des Mageninhaltes wird mit $\frac{N}{10}$-Natronlauge bis auf neutrale Reaction versetzt, auf Wasserbade zur Trockne eingedampft und vorsichtig eingeäschert. Die Asche wird mit Wasser extrahirt und im Extracte wird durch Titrirung mit einer Säure anwesendes Alkali bestimmt. Aus dem Unterschied zwischen dem zuge-

---

[1]) L. c.

[2]) Ueber das Vorhandensein freier Salzsäure im Magen. Zeitschrift für klinische Medicin, Bd. V. Ref. in Maly's Jahresbericht über die Fortschitte der Thierchemie, Bd. 12, S. 248.

[3]) Zeitschrift für analytische Chemie, Bd. 17, S. 236.

setzten Alkali und der Säure berechnet man die ursprüngliche Salzsäure. Diese Methode scheint leicht und bequem zu sein, und ich habe daher mehrere Bestimmungen mit ihr ausgeführt in der Absicht, ihre Zuverlässigkeit zu prüfen, habe aber immer zu hohe Werthe erhalten. Worauf dieses beruht, ist nicht leicht zu sagen. Der Mittheiler macht selbst aufmerksam darauf, dass man beim Glühen kleine Mengen Alkali verliert. Einige andere Fehlerquellen lassen sich ebenfalls denken. Die im Mageninhalte befindlichen Eiweissstoffe enthalten nicht so wenig (etwa 1—2 %) Schwefel und die mit dem Eiweiss mitfolgenden Nucleïne sind phosphorhaltig. Der Schwefel verbindet sich mit Alkali zu Schwefelalkali, welches in schweflige Säure und vielleicht auch in Schwefelsäure übergeführt werden kann, wodurch ein Verlust an Alkali entsteht. Der Phosphor kann in Phosphorsäure übergeführt werden, wodurch gleichfalls ein Verlust entsteht. Da ich aber bei Bestimmungen der Salzsäure in reinen Mischungen von Salzsäure und Milchsäure nach dieser Methode gleichfalls allzu hohe Werthe erhalten habe, musste eine andere Fehlerquelle vorhanden sein, und diese ist vielleicht darin zu sehen, dass aus dem milchsauren Natron bei der Erhitzung Natron verflüchtigt wird: nach Destillation von milchsaurem Natron bis zu vollständiger Zersetzung, der Neutralisation des Destillates mit Schwefelsäure und Verbrennung desselben, konnte ich in der Asche eine nicht unbedeutende Menge Natrium nachweisen. Dass die Methode also nicht eine gute ist, liegt klar zu Tage[1]).

Eine Methode, mit welcher fast absolut richtige Werthe erhalten werden, habe ich nach einer vom Professor K. A. H. Mörner in Stockholm mir mitgetheilten Idee ausgearbeitet.

Wenn ein Mageninhalt mit Baryumcarbonat zur Trockne eingedampft wird, werden die freien Säuren desselben in

---

[1]) Köster hat in Upsala Läkareförenings Förhandlingar, Bd. XX, eine Methode, freie Salzsäure zu bestimmen, mitgetheilt, doch lässt sich mit derselben nur die Salzsäure, welche nicht durch Eiweissstoffe gebunden ist, nachweisen, und man erhält daher für die wirklich secernirte Salzsäure keine exacte Werthe, weshalb ich diese Methode hier übergehe.

die Baryumsalze der respectiven Säuren übergeführt. Bei der folgenden Einäscherung bleibt gebildetes Chlorbaryum unverändert; die Salze der organischen Säuren werden zu Baryumcarbonat verbrannt. In den Wasserextract der Asche geht das Chlorbaryum über, der kohlensaure Baryt aber ist fast unlöslich in Wasser. Die Menge des Baryums in dem Extracte ist daher ein Maass für die ursprüngliche Menge freier Salzsäure. Es galt daher, das Baryum nach einer bequemeren Methode als mit der Wage bestimmen zu können.

Wenn man einer Auflösung eines Baryumsalzes eine Lösung von doppeltchromsaurem Kali zusetzt, so entsteht ein gelblicher, in Wasser und Essigsäure unlöslicher, in Salzsäure löslicher Niederschlag vom chromsaurem Baryt. Auf dieses Verhältniss hat Mohr[1]) eine Methode für Bestimmung von Baryt durch Titrirung gegründet. Seiner Vorschrift gemäss führt man die Titrirung in ammoniakalischer Flüssigkeit aus, und als Indicator dient die gelbe Farbe, welche beim kleinsten Ueberschusse des Chromates entsteht und sichtbar wird, sobald der Niederschlag abgesetzt ist und man die helle Lösung gegen ein schwarzes Papier hält. Diese Methode, die Titrirung auszuführen, ist hier jedoch nicht gut zu verwenden; wenn nämlich Kalksalze zugegen sind, kann man nicht umhin, auch sie zu titriren, und man erhält dann zu hohe Werthe; auch verursacht es zu grossen Zeitverlust, zwischen jedem Zusatz von Chromat zu warten, bis der Niederschlag sich absetzt. Besser erreicht man das Ziel dadurch, dass man in essigsäurehaltiger Lösung titrirt und als Indicator Doctor C. Wurster's Tetramethylparaphenylendiamin-Papier[2]) anwendet. Dieses Papier ist ursprünglich als Reagens auf Ozon vorgeschlagen; doppeltchromsaures Kali in essigsaurer Flüssigkeit wirkt indessen hinlänglich oxydirend, um die Reaction — Blaufärbung des Papiers — hervorzurufen. Zu der in einen Becher genommenen chlorbaryumhaltigen Lösung setzt man ein Drittel bis ein Viertel ihres Volumens Weingeist — um die Ausfällung

---

1) Lehrbuch der chemisch-analytischen Titrirmethode. Braunschweig, 1878.

2) Das Präparat wurde von Doctor Schuchardt in Görlitz berufen.

zu befördern — und dann einige Cubikcentimeter einer Lösung von 10 % Natriumacetat + 10 % Essigsäure zu — theils um die Ausfällung des chromsauren Kalkes zu verhindern, theils um der Bildung freier Salzsäure vorzubeugen. Aus einer Bürette setzt man hiernach unter Umrührung eine Lösung von doppeltchromsaurem Kali von bekannter Stärke zu und fährt damit fort, so lange der Niederschlag sich vermehrt; wenn man dieses nicht mehr entscheiden kann, taucht man ein Streifchen des Tetrapapiers in die Lösung und legt es sodann auf ein Uhrglas oder eine Glasscheibe mit weisser Unterlage. Findet man nach einigen Sekunden an der Stelle des Papiers, welche mit der Flüssigkeit in Berührung gewesen ist, keine deutliche Blaufärbung, so fügt man eine neue Portion Chromat zu, was man so lange wiederholt, bis die Reaction eintritt. Hat man kein Tetrapapier zur Hand, kann man sich auch mit einer anderen Indication behelfen, deren auch ich mich anfangs bedient habe. Wenn man dann nicht länger entscheiden kann, ob der Niederschlag sich noch vermehrt, so holt man mit einem Glasstabe einen Tropfen der Flüssigkeit heraus, lässt ihn sich ein vierdoppelt gefaltetes Filtrirpapier durchsaugen, faltet das Papier auf und bringt dann an die Stelle, wo der Tropfen sich zuletzt durchgezogen hat, einen Tropfen von einer 10procentigen Silbernitratlösung. Man hält das Papier gegen das Tageslicht, und wenn sich dann an der Stelle, wo die beiden Tropfen einander decken, keine schwach gelbe Farbe zeigt, so setzt man eine neue Portion Chromat zu, was wiederholt wird, bis die schwach gelbe Farbe sich zeigt. Ich will jedoch ausdrücklich bemerken, dass die Indication mit Tetrapapier vorzuziehen ist, indem dieselbe empfindlicher und auch bequemer ist. Mit einiger Uebung lernt man es bald nach dem Aussehen des Niederschlages zu beurtheilen, ob die Endreaction vorhanden ist. Der Verlust, welchen man durch die Herausnahme des einen oder andern Tropfens der Flüssigkeit erleidet, ist nicht so gross, dass er das Resultat merklich beeinflusst.

Zur Ausführung der Titrirung braucht man eine Lösung von doppeltchromsaurem Kali von bekannter Stärke. Am

besten wird ihr Titer so gestellt, dass ein Liter etwa 8,5 gr. enthält. Man kann jedoch diese Quantität nicht ohne Weiteres abwiegen, weil das in dem Handel vorkommende Chromat nicht immer rein ist. Am besten ist es daher, von einer $\frac{N}{10}$-Chlorbaryumlösung auszugehen. Das Chlorbaryum des Handels ist so rein, dass man es nach Umkrystallisation und Trocknen über Schwefelsäure direct abwiegen kann. Der Aequivalent des Chlorbaryums ist $\frac{BaCl_2 + 2\,H_2O}{2} = 122$; man wiegt 6,1 gr. ab und löst es zu einem halben Liter. Um die Lösung zu controliren, werden 50 cbcm. genau abgemessen, zur Trockne eingedampft, geglüht und der Rückstand gewogen; sein Gewicht soll 0,52 gr. sein, in anderem Falle muss man eine Correction machen. Von dem doppeltchromsauren Kali werden etwa 8,5 gr. abgewogen und zu einem Liter gelöst. Um jetzt das wirkliche Titer dieser letzten Lösung zu bestimmen, werden von der Chlorbaryumlösung 10 cbcm. abgemessen, zu etwa 50 cbcm. verdünnt, mit einem Drittel ihres Volumens Weingeist und 4 bis 5 cbcm. der essigsäurehaltigen Natriumacetatlösung versetzt. Hierzu setzt man aus einer Bürette von der Lösung des doppeltchromsauren Kalis zu, und die Titrirung wird auf oben angegebene Weise ausgeführt. Nimmt man z. B. an, dass 9 cbcm. doppeltchromsaures Kali erforderlich gewesen sind, um die Blaufärbung des Tetrapapiers hervorzurufen, so ist die Berechnung:

$$\underset{416}{2\,BaCl_2} + \underset{294}{K_2Cr_2O_7} + H_2O = 2\,BaCrO_4 + 2\,KCl + 2\,HCl.$$

In 10 cbcm. der Chlorbaryumlösung sind 0,104 $BaCl_2$ vorhanden:

$$0{,}104 : 94 = 416;\; x = 0{,}00816.$$

In jedem Cubikcentimeter der Chromatlösung sind also 8,16 mgr. $K_2Cr_2O_7$ vorhanden. Dem 2 $BaCl_2$ (= 416) entspricht 4 HCl (= 146):

$$146 : 294 = x : 8{,}33;\; x = 4{,}05.$$

Jeder Cubikcentimeter der Chromatlösung entspricht also 4,05 mgr. HCl.

Wenn die Chromatlösung in einer Flasche mit parafinirtem Korkstopfen aufbewahrt wird, scheint sie sich sehr lange Zeit unverändert halten zu können.

Die eigentliche Untersuchung wird auf folgende Weise ausgeführt: Von dem filtrirten Mageninhalte, dessen Salzsäuregehalt bestimmt werden soll, werden in eine kleine Platin- oder Silberschale 10 cbcm. abgemessen, mit einer Messerspitze reinen, chlorfreien, kohlensauren Baryts, welcher immer in einem kleinen Ueberschusse zugesetzt werden muss, versetzt und hiermit auf Wasserbade oder über einer kleinen Spiritusflamme zur Trockne eingedampft. Der trockene Rückstand wird verkohlt und einige Minuten gelinde geglüht — vollständige Einäscherung ist nicht nöthig. Zur erkalteten Kohle werden etwa 10 cbcm. Wasser zugesetzt, worauf man mit einem in dem einen Ende abgeplatteten Glasstabe oder einem ähnlichen Gegenstand die Kohle fein zerreibt und im Kochen extrahirt. Man filtrirt durch ein kleines Filtrum, wäscht den Rückstand mit Wasser aus, bis man etwa 50 cbcm. Filtrat hat, welches dann mit einem Drittel oder Viertel seines Volumens Weingeist und 3 bis 4 cbcm. von der essigsäurehaltigen Natriumacetatlösung versetzt wird. Jetzt titrirt man mit der obigen Chromatlösung. Wenn z. B. 4 cbcm. der Chromatlösung zugesetzt sind, findet sich in dem Mageninhalte $4 \,.\, 4{,}05 = 16{,}2$ mgr. HCl. Um direct die Procentzahl zu erhalten, multiplicirt man die Anzahl verbrauchter Cubikcentimeter mit der Menge HCl, in Centigramm ausgedrückt, welche 1 Cubikcentimeter der Chromatlösung entspricht, und dividirt dann mit der Anzahl in Arbeit genommener Cubikcentimeter des Mageninhaltes, in welchem Falle also $\frac{4 \,.\, 0{,}405}{10} = 0{,}162\,\%$ HCl.

Die Anmerkungen gegen die Methode, welche vielleicht gemacht werden dürfen, sind wohl hauptsächlich folgende: Wenn man kohlensauren Baryt stark mit Kohle glüht, entsteht Aetzbaryt. Da der Mageninhalt natürlicher Weise immer organische Stoffe enthält, welche bei Erhitzung mit kohlensaurem Baryt in intimer Mischung mit ihm eine Kohle geben, so könnte man sich leicht denken, dass aus dem Ueberschuss

des kohlensauren Baryts sich Aetzbaryt bilde, welcher später in's Wasserextract übergeht, wodurch man zu hohe Werthe für die Salzsäure erhalten würde. Diese Gefahr ist jedoch ohne Bedeutung, wovon ich mich durch directe Versuche überzeugt habe: 10 cbcm. einer concentrirten Zuckerlösung wurden mit einer grossen Messerspitze Baryumcarbonat versetzt, zur Trockne eingedampft und geglüht, bis eine volle Weissheit der Asche sich einstellte, also während einer längeren Zeit und bei einer höheren Temperatur, als bei Salzsäurebestimmungen nöthig ist. Im Wasserextracte war freilich Baryum anwesend, doch in keiner grösseren Menge, als dass 0,2 cbcm. der Chromatlösung hinlänglich waren, es auszufällen und die Endreaction hervorzurufen. 0,2 cbcm. der Chromatlösung entsprechen 0,008 °/₀ HCl, welcher Werth, ob zu gross oder zu klein, bei einer Salzsäurebestimmung des Mageninhaltes für den Arzt nichts zu bedeuten hat. Eine andere Fehlerquelle findet sich darin, dass der kohlensaure Baryt in Wasser nicht ganz unlöslich ist; dieses hat aber gleichfalls nichts zu bedeuten, denn bei der Beurtheilung jener Fehlerquelle bei obigem Versuche war natürlicher Weise auch diese in Berechnung gezogen worden.

Bei der Prüfung von Seemann's Methode wurde gezeigt, welche störenden Einwirkungen der in dem Eiweisse sich vorfindende Schwefel und der in den Nucleïnen vorhandene Phosphor ausüben können. Gegen meine Methode kann man solch einen Vorwurf nicht machen, weil sowohl der schwefelsaure als der phosphorsaure Baryt in Wasser unlöslich ist.

Dass das Baryum von doppeltchromsaurem Kali wirklich vollständig ausgefällt wird, ist daraus ersichtlich, dass nach Abfiltriren des ausgefällten chromsauren Baryts Schwefelsäure in dem Filtrate keine Trübung bewirkte.

Dass die Titrirung bei Tageslicht ausgeführt werden muss, will ich endlich bemerken.

Ich will nun die Resultate mittheilen, welche ich bei der Prüfung dieser Methode erhalten habe, und dabei werde ich die Werthe besonders angeben, die mit Silbernitrat,

und diejenigen, die mit Tetrapapier als Indicator erhalten worden sind. 10 cbcm. ist die Quantität, welche gemeiniglich in Arbeit genommen worden ist.

Reine Salzsäurelösungen mit Silbernitrat als Indicator:

Salzsäure v.	0,05 % HCl;	bei der Bestimmung wurden erhalten	0,06 % HCl.
» »	0,1 » »	» » » » »	0,104 » »
» »	0,182 » »	» » » » »	0,186 » »
» »	0,216 » »	» » » » »	0,213 » »
» »	0,365 » »	» » » » »	0,360 » »

Reine Salzsäurelösungen mit Tetrapapier als Indicator:

Salzsäure v.	0,045 % HCl;	bei der Bestimmung wurden gefunden	0,046 % HCl.
» »	0,091 » »	» » » » »	0,093 » »
» »	0,182 » »	» » » » »	0,184 » »
» »	0,365 » »	» » » » »	0,368 » »
» »	0,416 » »	» » » » »	0,418 » »

Dass gleichzeitig anwesende Milchsäure nicht hinderlich ist, zeigen folgende Werthe:

Silbernitrat als Indicator:

Eine Lösung von	0,4 % $\overline{La}$	u. 0,108 % HCl;	wurden gefunden	0,104 % HCl.
» » »	1 » »	» 0,216 » »	» »	0,220 » »

Tetrapapier als Indicator:

Eine Lösung von	0,4 % $\overline{La}$	u. 0,016 % HCl;	wurden gefunden	0,018 % HCl.
» » »	0,4 » »	» 0,032 » »	» »	0,032 » »
» » »	0,4 » »	» 0,064 » »	» »	0,062 » »
» » »	0,4 » »	» 0,128 » »	» »	0,130 » »
» » »	0,4 » »	» 0,256 » »	» »	0,256 » »

Bei Anwendung der Methode mit reinen Milchsäurelösungen wurde bei Zusatz des ersten Tropfens Kaliumchromat die Endreaction erhalten.

Die Annahme, dass freie Milchsäure und anwesendes Kochsalz während der Operation sich mit einander so umsetzen, dass freie Salzsäure entsteht, liegt nicht so fern. Dieses geschieht jedoch nicht, denn wenn ich eine Milchsäure von 0,9 % mit Kochsalz zu 1 % versetzte und diese Mischung nach der Methode bearbeitete, rief der erste Tropfen Kaliumchromat die Endreaction hervor — kein Niederschlag entstand, nur eine sehr geringe Trübung.

Auch saure Phosphate können nicht hinderlich eingreifen, denn eine Mischung von Kochsalz, Milchsäure, Phos-

phorsäure und phosphorsaurem Natron, für welche ich die Methode zur Anwendung brachte, gab dasselbe Resultat.

Um einen künstlichen Mageninhalt von einem genau bekannten Salzsäuregehalte zu erhalten, welcher einem wirklichen so viel als möglich ähnlich war, digerirte ich wohl ausgewaschenes salzfreies Fibrin mit Milchsäure + Pepsin. Die Digestionsproducte, welche sowohl Hemialbumose als Pepton reichlich enthielten, wurden mit Salzsäure zu bekanntem Gehalt versetzt. Der Milchsäuregehalt musste freilich bedeutend höher als physiologisch genommen werden, damit die Digestion stattfinden konnte, doch kann dieser Umstand die Beweiskraft der Versuche nicht verringern, eher umgekehrt. Mit Tetrapapier als Indicator wurden diese Digestionsproducte sodann nach der Methode untersucht, vorher aber erst mit Salzsäure versetzt:

zu	0,182%	HCl;	bei	der	Bestimmung	wurde	gefunden	0,182%	HCl.
»	0,122	»	»	»	»	»	»	0,124	»
»	0,061	»	»	»	»	»	»	0,066	»
»	0,033	»	»	»	»	»	»	0,032	»
»	0,023	»	»	»	»	»	»	0,028	»

In den zwei letzteren Fällen wurde mit Günzburg's[1]) sehr empfindlicher Phloroglucinreaction keine Reaction auf freie Salzsäure erhalten; Congoroth gab eine schwache Reaction, welche wohl durch den hohen Milchsäuregehalt hervorgerufen wurde.

Mit wirklichen Mageninhalten sind zahlreiche Untersuchungen ausgeführt worden, von welchen ich hier folgende mittheile:

No. 1. Mageninhalt von einem Patienten mit gestörter Digestion. Eine grosse Menge undigerirter Nahrungsmittel kam vor. Die Reaction war sauer. Zweifelhafte Reaction auf Salzsäure mit den Anilinfarbstoffen, Reaction auf Milchsäure mit Eisenchloridcarbol. Totalacidität, wie Salzsäure berechnet, 0,15%. Meine Methode gab (Silbernitrat als Indicator) 0,02% HCl.

---

[1]) Centralblatt für klinische Medicin, achter Jahrgang, No. 40.

No. 2. Mageninhalt von saurer Reaction. Gab die Phloroglucinreaction und Reaction auf Milchsäure. Totalacidität 0,29 %. Drei Bestimmungen wurden mit der Methode (Silbernitrat als Indicator) ausgeführt, welche die Werthe 0,130, 0,135 und 0,132 % HCl gaben. Mit demselben Mageninhalte wurde mit der Cinchoninmethode von Cahn und v. Mering eine Bestimmung ausgeführt, welche 0,125 % HCl gab.

No. 3. Mageninhalt von saurer Reaction. Gab die Phloroglucinreaction und Reaction auf Milchsäure. Drei Bestimmungen (Silbernitrat als Indicator) gaben respective 0,08, 0,072 und 0,076 % HCl. Die Cinchoninmethode gab 0,066 % HCl.

No. 4. Mageninhalt von saurer Reaction. Gab die Phloroglucinreaction. Zweifelhafte Reaction auf Milchsäure. Totalacidität 0,2 %. Zwei Bestimmungen (Tetrapier als Indicator) gaben respective 0,136 und 0,140 %.

No. 5. Mageninhalt von saurer Reaction. Gab die Phloroglucinreaction und Reaction auf Milchsäure. Totalacidität 0,295 %. Zwei Bestimmungen (Tetrapapier als Indicator) gaben 0,142 und 0,146 % HCl.

No. 6. Mageninhalt von saurer Reaction. Gab die Phloroglucinreaction. Schwache Reaction auf Milchsäure. Totalacidität 0,189 %. Zwei Bestimmungen (Tetrapapier als Indicator) gaben 0,160 und 0,168 % HCl.

No. 7. Mageninhalt von saurer Reaction. Gab die Phloroglucinreaction nicht. Zweifelhafte Reaction mit Methylviolett; keine Reaction mit den übrigen Anilinfarbstoffen. Reaction auf Milchsäure. Totalacidität 0,14 %. Zwei Bestimmungen nach meiner Methode gaben 0 % HCl. Dieser Mageninhalt, welcher also keine freie Salzsäure enthielt, wurde mit Salzsäure bis auf 0,033 % versetzt. Die Phloroglucinreaction gab nun gleichfalls negatives Resultat. Meine Methode (Tetrapapier als Indicator) gab 0,030 % HCl.

Stockholm, im Mai 1888.

Stoffwechselproducte des Acetanilids im menschlichen Körper.

Von

Prof. K. A. H. Mörner.

(Aus dem medic.-chem. Laboratorium des Karolinischen Instituts zu Stockholm.)

(Der Redaction zugegangen am 2. Juni 1888.)

Ueber die Umsetzung des Acetanilids im menschlichen Körper liegen nur wenige Untersuchungen vor. Bei Versuchen an Kranken fand Fr. Müller[1]) eine bedeutende Vermehrung der Aetherschwefelsäuren des Harns, während die Menge der präformirten Schwefelsäure sehr verringert war. Der Harn gab nach dem Kochen mit Salzsäure bei Zusatz von Carbolsäure und Chromsäure eine rothe Farbe, welche durch Ammon in Blau übergeführt wurde (Indophenolreaction); ebenso verhielt sich das Aetherextract des mit Salzsäure gekochten Harns. Anilin und unverändertes Acetanilid fanden sich in dem Harne nicht vor. Grund dessen wird angenommen, dass der Hauptheil des eingeführten Acetanilids als Paraamidophenolätherschwefelsäure ausgeschieden wird. Die Bestimmung der Menge der Aetherschwefelsäure macht es jedoch wahrscheinlich, dass ein bedeutender Theil des Acetanilids in anderer Weise umgesetzt wird, indem die Aetherschwefelsäure nur etwa der Hälfte des eingeführten Acetanilids entsprach.

Neuerlich haben Jaffé und Hilbert[2]) das Verhalten des Acetanilids im Stoffwechsel des Hundes und des Kaninchens verfolgt. Nach dem Kochen des Harns mit Salzsäure

---

[1]) Deutsche medic. Wochenschrift, 1887, Bd. 13, S. 27.

[2]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, 1888, Bd. 12, S. 295.

wurden die Spaltungsproducte aus saurer und aus alkalischer Lösung mit Aether ausgeschüttelt. Aus dem Harne des Hundes und des Kaninchens wurden verschiedene Producte erhalten. Aus Hundeharn wurde hauptsächlich ein saurer Körper, o-Oxycarbanil ($C_6H_4 < {N \atop O} > COH$), erhalten, welcher von Ortho-Amidophenol derivirt. Aus Kaninchenharn erhielten sie Paraamidophenol. Diese Verbindungen waren ursprünglich mit Schwefelsäure und mit Glykuronsäure gepaart im Harne vorhanden, und der Harn zeigte mehrmals eine bedeutende Linksdrehung. Unverändertes Acetanilid wurde nicht im Harne gefunden.

Nach Untersuchungen von Cahn und Hepp kann doch beim Hunde das Acetanilid bisweilen unverändert im Harne ausgeschieden werden.

Um die Stoffwechselproducte des Acetanilids zu studiren, habe ich den Harn von Personen, welche dieses Arzneimittel einnahmen, untersucht, und, obgleich die Untersuchung nur zum Theil abgeschlossen ist, scheinen mir die gewonnenen Resultate nicht ohne Interesse zu sein.

Der Harn ist, wie Fr. Müller bemerkt, nach Einnahme von Acetanilid gewöhnlich von gesättigter rothgelber Farbe und enthält reichliche Mengen von Urobilin. Da dies bei Gesunden, die Acetanilid einnehmen, auch der Fall ist, so ist es wahrscheinlich, dass diese Urobilinausscheidung mit der von Fr. Müller nachgewiesenen Methämoglobinbildung im Blute zusammenhängt.

Einige Versuche, unverändertes Acetanilid durch Ausschütteln mit Chloroform zu isoliren, gaben mir ein völlig negatives Resultat.

In zwei Fällen wurden die Mengen der Sulfat- und der Aetherschwefelsäure sowie des neutralen Schwefels bestimmt. In einem Falle wurde in 100 cbcm. des Harns nach täglich 2 gr. Acetanilid gefunden:

Sulfatschwefelsäure	gleich	0,0789 gr.	SO_3
Aetherschwefelsäure	»	0,0334 gr.	»
Neutraler Schwefel	»	0,0298 gr.	»

Das Verhältniss der Aetherschwefelsäure zur Gesammtschwefelsäure ist also wie 1 : 3,4. Die Aetherschwefelsäureausscheidung war also nicht besonders erhöht. Die Harnmenge betrug etwa 1 Liter in 24 Stunden. Die Aetherschwefelsäure entspricht also höchstens 1/8 des eingeführten Acetanilids. Der neutrale Schwefel macht, wie normal, etwa 1/6 des gesammten Schwefelgehaltes aus.

In einem anderen Falle wurden anlässlich einer Neuralgie täglich 4—5 gr. Acetanilid genommen. In 100 cbcm. Harn waren enthalten:

Sulfatschwefelsäure	gleich	0,0025 gr.	SO_3
Aetherschwefelsäure	»	0,1056 gr.	»

Die Menge der Sulfate war also eine minimale, und die Aetherschwefelsäureausscheidung zeigte sich bedeutend erhöht; sie entsprach doch lange nicht der ganzen Menge des Acetanilids, höchstens etwa der Hälfte derselben.

Sieben Wochen später, während welcher Zeit die Antifebrinmedication fortgesetzt worden war, führte ich noch eine Bestimmung aus. In 100 cbcm. des Harns wurden gefunden:

Sulfatschwefelsäure	gleich	0,0474 gr.	SO_3
Aetherschwefelsäure	»	0,1056 gr.	»
Neutraler Schwefel	»	0,0366 gr.	»

Die Aetherschwefelsäureausscheidung war also zwar erhöht, aber nicht in demselben Grade, wie einige Wochen vorher. Die Menge des neutralen Schwefels war nicht auffallend gross. Der Harn war linksdrehend (etwa 0,5° in einer Schicht von 10 cm.) und reducirte Kupferoxyd in alkalischer Lösung.

Nach dem Kochen mit Salzsäure wurde allemal Indophenolreaction erhalten (nach dem Erkalten Rothfärbung bei Zusatz von erst Phenol und dann verdünnter Chromsäure; Zusatz von Ammon ändert die Farbe in ein schönes Blau um). Ebenso, wie das nun Angeführte die Angaben Müller's bestätigt, fand ich ebensowenig wie er beim Kochen mit Natronlauge Anilin in das Destillat übergehend. Beim Destilliren des von Salzsäure stark sauern Harns gingen nur Spuren von Phenol in das Destillat über, welches eine deut-

liche Millon's Reaction aber keinen Niederschlag für Bromwasser gab. Im Destillate wurden nach dem Neutralisiren und Einengen starke Essigsäurereactionen erhalten.

Um die Aetherschwefelsäure aus dem Harn zu isoliren, erzielte ich das Kaliumsalz derselben darzustellen und dasselbe zusammen mit Kaliumäthyloxalat zu krystallisiren. Den Zusatz des Kaliumäthyloxalats fand ich sehr vortheilhaft: dadurch wurde die Menge der zu krystallisirenden Substanz grösser und eine leicht krystallisirende Verbindung erhalten. Ein Versuch, die Aetherschwefelsäure ohne diesen Kunstgriff darzustellen, misslang vollständig. Das Kaliumäthyloxalat, wenn ich es in krystallisirter Form zusetzte, wurde durch mehrstündiges Erwärmen von Oxalsäure mit Weingeist (97 %), Neutralisiren durch Kaliumcarbonatlösung, Eintrocknen und Umkrystallisiren des Salzes aus 94—97 % Weingeist dargestellt.

Die Bearbeitung des Harns wurde nach Umständen etwas modificirt. Bei der ersten Untersuchung verfuhr ich folgendermaassen. Der Harn wurde zu Syrup abgedampft, mit Weingeist von etwa 90—93 % ausgezogen, mit 1/2 Vol. Aether und mit einer während einer längeren Zeit erwärmten concentrirten, alkoholischen Oxalsäurelösung versetzt; die Lösung wurde von dem Niederschlage abgehoben, durch Kaliumcarbonatlösung neutralisirt und auf dem Dampfbade eingetrocknet; aus dem Rückstand wurden unter gelindem Erwärmen der rückständige Harnstoff und ein Theil des überschüssigen Kaliumäthyloxalats durch 99 1/2 % Weingeist extrahirt; aus dem Rückstande wurden das Kaliumsalz der Aetherschwefelsäure und das Kaliumäthyloxalat durch Kochen mit 96 % Weingeist gelöst und siedend heiss filtrirt. Bei der Abkühlung schied eine molekulare Verbindung dieser Salze aus. Durch repetirtes Umkrystallisiren aus 96 % Weingeist, wenn nöthig unter Anwendung von Thierkohle, wurde die Doppelverbindung gereinigt; das überschüssige Kaliumäthyloxalat blieb in der Mutterlauge.

Bei den weiteren Untersuchungen habe ich den Harnstoff etc. durch Zusatz einer concentrirten lauwarmen, wässerigen

Oxalsäurelösung aus dem Weingeistextracte gefällt und diesen wie angegeben bearbeitet. Das Kaliumäthyloxalat wurde dann vor dem Krystallisiren in die heisse, weingeistige Lösung eingetragen. In einem Falle, wo der Harn stärker gefärbt war, fand ich es vortheilhaft, die wässerige Lösung, welche nach dem Fällen mit Oxalsäure und Neutralisiren, sowie Abdampfen des Weingeistes erhalten wurde, durch neutrales und basisches Bleiacetat zu fällen und das Filtrat von diesen Niederschlägen nach Entfernung des überschüssigen Bleies durch Kaliumsulfat und schliesslich durch Schwefelwasserstoff auf die Doppelverbindung zu verarbeiten.

Die Verbindung des ätherschwefelsauren Kaliumsalzes mit dem Kaliumäthyloxalat wurde als langgezogene, dünne, weisse Krystallblättchen erhalten, welche oft zu Büscheln oder Reben vereinigt waren. Die Krystalle waren wasserfrei, und nach dem Trocknen über Schwefelsäure verloren sie bei 100—105^0 nur unbedeutend an Gewicht. Bei dieser Temperatur wurden sie nicht verändert. In Wasser waren sie leicht löslich. In Weingeist von 96$^0/_0$ wurden sie in der Hitze ziemlich erheblich gelöst, krystallisirten aber bei Abkühlung zum grössten Theil wieder aus. Die wässerige Lösung war optisch inactiv. Nach dem Kochen mit Salzsäure gab Chlorbaryum einen reichlichen Niederschlag. Die mit Salzsäure gekochte Lösung gab eine prachtvolle Indophenolreaction.

Ich habe im Ganzen drei Aetherschwefelsäure-Präparate verschiedenen Ursprungs dargestellt und analysirt.

Präparat I.

Aus sechs Liter gemischten Harns nach Gebrauch von 1—2 gr. Acetanilid in 24 Stunden wurden 1,4 gr. der gereinigten Doppelverbindung erhalten. Das Präparat war rein weiss.

Analysen.

1. Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl. 0,3681 gr., bei 100^0 getrocknet, gaben 0,0119 gr. N, entsprechend 3,23$^0/_0$ Stickstoff.

2. Die Bestimmung des Kohlenstoffs und Wasserstoffs geschah durch Verbrennen mit Bleichromat, zuletzt in einem Sauerstoffstrome. Das condensirte Wasser reagirte völlig neutral. Aus 0,2765 gr. bei 100^0

getrockneter Substanz wurden erhalten 0,0822 gr. H_2O, gleich 0,00913 gr. Wasserstoff. und 0,3414 gr. CO_2, gleich 0,0991 gr. Kohlenstoff. Die Substanz enthielt also 3,30 % H und 33,67 % C.

3. Die Schwefelsäure wurde durch Kochen mit Salzsäure abgetrennt und mit Chlorbaryum gefällt. Es wurden aus 0,1819 gr. der Substanz (bei 105° getrocknet) 0,0945 gr. Baryumsulfat erhalten, was 0,0130 gr. und 7,15 % S entspricht.

4. Das Kalium wurde nach Kämmerer als Kaliumsulfat bestimmt. Aus 0,2111 gr. der bei 105° getrockneten Substanz wurden erhalten 0,0852 gr. Kaliumsulfat, gleich 0,0383 gr. und 18,15 % K.

5. Oxalsäurebestimmung. Von der bei 100° getrockneten Substanz wurden 0,1621 gr. abgewogen, in Wasser gelöst, mit Salzsäure erwärmt und die Oxalsäure nach Zusatz von Ammon durch Chlorcalcium abgeschieden. Nach dem Zusatze von Ammon färbte sich die Lösung rasch braunviolett, auch das ausfallende Calciumoxalat war gefärbt; dasselbe wurde jedoch durch Waschen mit Weingeist farblos erhalten. Die Oxalsäure wurde in dem ausgewaschenen Niederschlag durch Titriren mit Chamäleon bestimmt. Von der Chamäleonlösung (N/10) wurden 7,6 cbcm. verbraucht, was 0,03412 gr. oder 21,05 % $C_2H_2O_4$ entspricht.

Präparat II.

Aus 15 Liter gemischten Harns nach täglicher Einnahme von 1—2 gr. Acetanilid wurden 3 gr. des Doppelsalzes erhalten. Das Präparat hatte noch einen Stich in's Gelbliche.

Analysen.

1. Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl. Von der bei 100—105° getrockneten Substanz wurden 0,3569 gr. abgewogen. Die Stickstoffmenge entsprach 8,3 cbcm. N/10, was 0,0116 gr. oder 3,26 % N giebt.

2. Kohlenstoff und Wasserstoff wurden durch Verbrennen mit Bleichromat zuletzt im Sauerstoffstrome bestimmt. Das condensirte Wasser reagirte völlig neutral. Von der bei 100° getrockneten Substanz wurden 0,3707 gr. zur Analyse verwendet. Das Wasser betrug 0,1103 gr., entsprechend 0,0123 gr. Wasserstoff. Die Kohlensäure wog 0,4609 gr., 0,1257 gr. Kohlenstoff entsprechend. Also wurden gefunden Wasserstoff gleich 3,32 %, und Kohlenstoff, gleich 33,91 %.

3. Die Schwefelsäure wurde durch Eintrocknen auf dem Dampfbade nach Zusatz von Salzsäure und Chlorbaryum abgeschieden. Der Rückstand war fast völlig farblos. Von der bei 100—105° getrockneten Substanz wurden 0,1029 gr. verwendet. Das Baryumsulfat betrug 0,0546 gr., entsprechend 0,0075 gr. oder 7,29 % Schwefel.

4. Das Kalium und die Oxalsäure wurden in ein und derselben Portion bestimmt. 0,4367 gr. der bei 100° getrockneten Substanz wurden in Wasser gelöst, mit einer Auflösung von sorgfältig gewaschenem Calcium-

hydrat versetzt und auf dem Dampfbade 1 Stunde gewärmt. Der Niederschlag von Calciumoxalat wurde ausgewaschen und die Oxalsäure durch Chamäleontitrirung bestimmt. Von der Chamäleonlösung (1 cbcm. gleich 1,0025 cbcm. N/10) wurden 20,45 cbcm. verbraucht, welche 0,0920 gr. oder 21,08 % $C_2H_2O_4$ entsprechen.

Das Filtrat vom Calciumoxalat wurde durch Ammoniumoxalat gefällt, eingetrocknet und erhitzt, bis alles Ammon entwichen war. Hierauf wurde der Rückstand in verdünnter Salzsäure gelöst, und Baryumhydrat bis zu alkalischer Reaction zugesetzt. Aus dem Fiitrate wurde das Baryum durch Ammoniumcarbonat in der Siedehitze gefällt. Das Filtrat wurde eingetrocknet und gelinde geglüht. Aus der Lösung des Rückstandes wurde das Kalium in üblicher Weise als Kaliumplatinchlorid abgeschieden, bei 130° getrocknet und gewogen. Es wurden 0,5023 gr. Kaliumplatinchlorid erhalten. Die Kaliummenge betrug also (nach Fresenius berechnet) 0,0805 gr. oder 18,43 % K. (Die Bestimmung wurde durch Glühen des Kaliumplatinchlorids in trockenem Wasserstoff und Wägung des rückständigen Platins controllirt. Die Platinmenge entsprach 18,66 % K.)

Präparat III.

Aus 20 Liter Harn einer Patientin, welche unter der Zeit, wo ihr Urin gesammelt wurde, täglich 4 gr. Acetanilid einnahm, wurden nach der oben beschriebenen Methode mit Fällung durch Bleiacetat 14 gr. des Doppelsalzes erhalten. Das Präparat war weiss. Bei 105° verlor das über Schwefelsäure getrocknete Präparat 0,58 %.

Analysen.

1. Der Stickstoff wurde nach Kjeldahl bestimmt. 0,7175 gr. des über Schwefelsäure getrockneten Präparates, 0,7133 gr. des bei 105° getrockneten Präparates entsprechend, enthielten 0,0235 gr. Stickstoff, gleich 3,29 % N in der bei 105° getrockneten Substanz.

2. Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmungen.

a) 0,4121 gr. des über Schwefelsäure getrockneten Präparates, entsprechend 0,4097 gr. nach dem Trocknen bei 105°, wurden im Bajonetrohre mit Bleichromat, zuletzt im Sauerstoffstrome verbrannt. Das condensirte Wasser reagirte völlig neutral. Das Wasser betrug (nach Abrechnung von 2,4 mgr. Feuchtigkeit in der Substanz) 0,1227 gr., gleich 0,0136 gr. Wasserstoff. Die Kohlensäuremenge betrug 0,5097 gr., gleich 0,1390 gr. Kohlenstoff. Für trockene Substanz berechnet, wurden also 3,32 % H und 33,93 % C gefunden.

b) 0,2738 gr. (bei 105° getrocknet) wurden mit Bleichromat und Kaliumdichromat in einem Porzellanschiffchen gemischt, getrocknet, in

das in üblicher Weise vorher erwärmte und getrocknete Verbrennungsrohr eingeschoben und unter Zuleitung von Sauerstoff die Verbrennung vollführt. Das condensirte Wasser reagirte völlig neutral. Es wurden erhalten: 0,0797 gr. Wasser, gleich 0,00886 gr. Wasserstoff, und 0,3423 gr. Kohlensäure, gleich 0,09335 gr. Kohlenstoff. In der trockenen Substanz wurden also 3,23 % H und 34,09 % C. gefunden.

3. Der Schwefel wurde durch Abdampfen mit Salpetersäure etc. nach Hammarsten[1]) bestimmt. Aus 0,4925 gr. des bei 100—105° getrockneten Präparates wurden 0,2679 gr. Baryumsulfat erhalten, welches 0,0368 gr. oder 7,47 % Schwefel entspricht.

4. Das Kalium wurde nach Kämmerer bestimmt. Aus 0,6955 gr. der bei 100—105° getrockneten Substanz erhielt ich 0,2818 gr. Kaliumsulfat, gleich 0,1265 gr. oder 18,19 % K.

5. Die Oxalsäure wurde, um eine Färbung zu vermeiden, wie im Präparat II durch Erwärmen mit Kalkwasser ausgefällt und titrirt.

a) 0,1985 gr. Substanz, bei 100° getrocknet. Der Chamäleonverbrauch war 7,78 cbcm. (1 cbcm. = 1,194 cbcm. N/10), was 0,0417 gr. oder 21,01 % $C_2H_2O_4$ entspricht.

b) 0,2681 gr. der bei 105° getrockneten Substanz. Der Chamäleonverbrauch (1 cbcm. = 1,194 cbcm. N/10) betrug 10,5 cbcm., 0,0563 gr. oder 21,00 % $C_2H_2O_4$ entsprechend.

Die gefundenen Zahlen stimmen mit der Formel

$$C_6H_4\begin{cases}NH.C_2H_3O\\O.SO_2.OK\end{cases} + \begin{cases}CO.O.C_2H_5\\CO.O.K\end{cases}$$

so gut überein, dass man die Annahme, die Krystalle haben aus einem Moleküle acetylamidophenoleterschwefelsaures Kalium und einem Moleküle Kaliumäthyloxalat bestanden, welche Moleküle zusammen krystallisirt waren, als bewiesen betrachten kann.

	Berechnet:	Gefunden:		
		Präp. I.	Präp. II.	Präp. III.
Stickstoff	3,31 %	3,23 %	3,26 %	3,29 %
Kohlenstoff	33,85 »	33,67 »	33,91 »	33,93 » / 34,09 »
Wasserstoff	3,06 »	3,30 »	3,32 »	3,32 » / 3,23 »
Schwefel	7,54 »	7,15 »	7,29 »	7,47 »
Kalium	18,40 »	18,15 »	18,43 »	18,19 »
Oxalsäure	21,16 »	21,05 »	21,08 »	21,01 » / 21,00 »

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 9, S. 289.

Die Bestimmungen zeigen mit den berechneten Werthen eine so gute Uebereinstimmung, dass man den analysirten Präparaten unzweifelhaft die angeführte Formel zusprechen darf. Um dies aber noch sicherer zu begründen, habe ich einige weitere Untersuchungen ausgeführt.

Einige Gramm des Doppelsalzes wurden in Wasser gelöst und die Oxalsäure durch Kalkmilch ausgefällt. Durch Zusatz von Oxalsäure wurde neutrale Reaction hervorgerufen. Die klare, fast farblose Lösung wurde zum Trocknen eingedampft und mit Weingeist von 95 % ausgekocht. Aus dieser Lösung schied sich das Kaliumsalz der Aetherschwefelsäure aus, welches durch Wiederauflösen in Weingeist und Behandlung mit Thierkohle gereinigt und dann umkrystallisirt wurde. Es wurden kleine, tafelförmige Krystalle erhalten, welche eine schwache gelbe Farbe zeigten. Bei dem Erhitzen des über Schwefelsäure getrockneten Salzes wurde dasselbe schon bei 100° schwach braun und nahm einen aromatischen Geruch an. Bei längerem Trocknen bei 100—105° nahm es an Gewicht zu und wurde stärker braun gefärbt.

Analysen.

1. 0,4434 gr. der bei 100—105° getrockneten Substanz gaben bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl 0,0221 gr. N, entsprechend 4 98 % Stickstoff.

2. In 0,8075 gr. des bei 100—105° getrockneten Salzes wurde das Kalium nach Kämmerer bestimmt. Das Kaliumsulfat wog 0,2604 gr., was 0,1169 gr. oder 14,48 % Kalium entspricht.

Die Formel $C_6H_4\begin{cases}NH.C_2H_3O\\O.SO_2.OK\end{cases}$ verlangt 5,21 % Stickstoff und 14,53 % Kalium; gefunden wurden 4,98 % N und 14,48 % K, wodurch die angeführte Zusammensetzung der Aetherschwefelsäure noch weiter bestätigt wird. Da das isolirte ätherschwefelsaure Salz viel leichter zersetzt wird und schwieriger krystallisirt als die Verbindung mit Kaliumäthyloxalat, so habe ich diese Untersuchungen nicht weiter verfolgt.

Dass die Aetherschwefelsäure ein Acetylderivat und nicht eine Amidophenolätherschwefelsäure war, geht schon aus dem Angeführten hervor. Eine Verbindung dieser Säure mit Kalium-

äthyloxalat würde Zahlen verlangen, welche von den gefundenen weit differiren (C = 31,30 %; H = 2,88 %; N = 3,66 %; S = 8,36 %; K = 20,41 % und $C_2H_2O_4$ = 23,46 %), ebenso das Kaliumsalz der Aetherschwefelsäure (N = 6,18 % und K = 17,22 %).

Um das Vorhandensein der Acetylgruppe sicher zu demonstriren, habe ich unter den Spaltungsproducten nach Essigsäure gesucht. 1,014 gr. des getrockneten Doppelsalzes wurde in zugeschmolzenem Rohre mit Schwefelsäure von 10 % während 7 Stunden auf 120° erhitzt; der Rohrinhalt wurde mit Wasser verdünnt, unter Zusatz des übergegangenen Wassers so lange destillirt, als das Destillat deutlich sauer reagirte. Das Destillat (500 cbcm.) wurde mit titrirtem Barytwasser neutralisirt. Der Verbrauch an Barytwasser (N/10) war 22,9 cbcm. entsprechend 0,1371 gr. oder 13,52 % $C_2H_4O_2$ (berechnet 14,11 %). Die klare Lösung wurde eingeengt und auf Essigsäure geprüft, wobei mit Eisenchlorid eine recht starke Reaction erhalten wurde; ebenso konnte mit Weingeist und concentrirter Schwefelsäure ein deutlicher Essigäthergeruch erhalten werden. Die Hauptmenge der Lösung wurde mit Silbernitrat versetzt und eingedampft, wobei eine nicht unbedeutende Schwärzung eintrat. Der Rückstand wurde, nach Entfernung des Silbernitrats durch Weingeist, mit heissem Wasser extrahirt. Die nach dem Concentriren und Erkalten erhaltenen fast völlig weissen Krystalle des Silbersalzes wurden über Schwefelsäure getrocknet. 0,0413 gr. liessen beim Glühen 0,0265 gr. Silber zurück, was 64,17 % Ag entspricht (berechnet für das Silberacetat 64,65 %).

Bei einem ferneren Versuche wurden 1,1952 gr. des getrockneten Doppelsalzes mit Schwefelsäure von etwa 5 % so lange destillirt, als das Destillat sauer reagirte. Das Destillat (600 cbcm.) erforderte zum Neutralisiren 28 cbcm. Barytwasser (N/10)[1]), was 0,1676 gr. oder 14,03 % $C_2H_4O_2$ entspricht (berechnet 14,11 %). Ein Viertel der concentrirten

---

[1]) Nach dem Abdampfen zu 1/4 war die Reaction sauer; zum Neutralisiren waren 0,6 cbcm. Barytwasser nöthig, welche mitgerechnet sind.

Lösung wurde auf Ameisensäure geprüft. Quecksilberchlorid gab einen sehr geringen weissen Niederschlag, der in verdünnter Salzsäure nicht löslich war; auf das Filter gesammelt, gewaschen und mit Natronlauge betupft, nahm er eine schwache graue Färbung an. Es schien also eine Spur von Ameisensäure zugegen zu sein.

Der übrige Theil der Lösung wurde mit der berechneten Menge aufgelöstem Silbersulfat versetzt; das Filtrat eingeengt, die erhaltenen fast völlig weissen Krystalle über Schwefelsäure getrocknet und dann analysirt. Aus 0,1157 gr. wurden durch Glühen 0,0744 gr. Ag erhalten, was 64,31 % Ag entspricht (für das Silberacetat berechnet 64,69 %).

Dem Angeführten zufolge scheint es mir keinem Zweifel zu unterliegen, dass die Aetherschwefelsäure, wie die Formel es ausdrückt, eine Acetylgruppe enthielt.

Dass sie ein Paraamidophenolderivat war, ist schon daraus ersichtlich, dass sie nach dem Kochen mit Salzsäure schöne Indophenolreaction gab, welche Reaction unter den Amidophenolen nur dem Paraamidophenol zukommt. Ich habe ausserdem auch Versuche ausgeführt, um das Paraamidophenol zu isoliren. Der Rückstand nach dem Abdestilliren der Essigsäure wurde mit Baryumcarbonat und zuletzt mit Barytwasser neutralisirt; das Filtrat wurde durch Natriumcarbonat alkalisch gemacht, wobei es sich stark färbte, und mit alkoholhaltigem Aether ausgeschüttelt, der Aether im Vacuum unter gelindem Erwärmen abdestillirt, der Rückstand in Alkohol gelöst und durch Thierkohle möglichst entfärbt; die Lösung wurde im Vacuum unter gelindem Erwärmen stark concentrirt, wobei sich eine geringe Menge fast farbloser Krystallblättchen absetzte. Die Krystalle wurden gesammelt und über Schwefelsäure getrocknet. Beim Erhitzen schmolzen sie unter Schwärzung bei 182° (das Paraamidophenol schmilzt nach Beilstein unter Zersetzung bei 184°). Einige wenige Krystalle waren hinreichend, um eine prachtvolle Indophenolreaction zu geben.

Auch bei der anderen Untersuchung auf Essigsäure wurde der Rückstand auf Paraamidophenol verarbeitet. Auch

diesmal wurde eine geringe Menge fast farbloser Krystalle erhalten, welche ebenso unter Schwärzung bei 181—182° schmolzen.

Nach Einführen von Acetanilid in den menschlichen Körper wird also ein Theil des Mittels zu Acetylparaamidophenol oxydirt und als eine Aetherschwefelsäure ausgeschieden. Ob daneben auch eine andere Aetherschwefelsäure (etwa Paraamidophenolätherschwefelsäure) gebildet wird, kann ich natürlich nicht mit Bestimmtheit sagen, doch liegt bis jetzt für eine solche Annahme kein Grund vor.

Wie ich oben bemerkt habe, entspricht die Vermehrung der Aetherschwefelsäure des Harns lange nicht der eingeführten Menge des Acetanilids. Da der Harn, wie oben angeführt, eine Linksdrehung zeigen kann, liegt die Annahme nahe, dass ein der Aetherschwefelsäure entsprechendes Glykuronsäurederivat gebildet wird. Die Reindarstellung der linksdrehenden Substanz ist mir nicht gelungen, obgleich die Menge derselben wahrscheinlich grösser war, als die der Aetherschwefelsäure.

Das reinste Präparat der linksdrehenden Substanz, welches ich bisher unter den Händen gehabt habe, war ein aus gleichförmigen, in Wasser ziemlich schwerlöslichen Krystallblättchen bestehendes Zinksalz. Die Farbe desselben war schwach rosa. Die über Schwefelsäure getrocknete Substanz wurde bei 100° nicht verändert. Die Lösung derselben wirkte stark linksdrehend. Bei einem ersten Versuche wurde die specifische Drehung zu $\alpha_D = -79°$ bestimmt. Nach Umkrystallisiren, wobei zwei Drittel zurückerhalten wurden, war die Rotation $\alpha_D = -89°$. Nach dem Kochen mit Salzsäure wurde alkalische Kupfer- und Wismuthlösung reducirt; die Lösung gab nach der Salzsäurebehandlung eine schöne Indophenolreaction.

Die Menge der Substanz betrug nur $^1/_4$ gr., weshalb ich auf weitere Reinigungsversuche verzichtete. Da die Substanz Schwefel enthielt, vermuthete ich zuerst, eine der Mercaptur-

säure (Baumann und Preusse) verwandte Verbindung vor mir zu haben. Eine Bestimmung des Schwefels (in 0,1040 gr.) gab aber einen Schwefelgehalt von nur 1,2 %. Dieser Schwefelgehalt ist aber allzu gering, um die Annahme, dass es ein mercaptursäureähnlicher Körper war, zuzulassen. Freilich hatte ich einen kleinen Theil des Präparates auf Aetherschwefelsäure mit negativem Ergebniss geprüft; es scheint mir jedoch nicht unwahrscheinlich zu sein, dass die geringe Menge gebildetes Baryumsulfat in der Salzsäure gelöst erhalten wurde und der Schwefel von einem Gehalte an Aetherschwefelsäure herrührte. (Ich habe nämlich später ein aus gleichmässigen Krystallen bestehendes, rein weisses Kalisalz gesehen, das neben dem Glykuronsäurederivat auch beträchtliche Mengen von Aetherschwefelsäure enthielt.) Beim Kochen mit alkalischer Bleioxydlösung wurde kein Schwefelblei gebildet. Bei Erwärmen der Lösung in concentrirter Schwefelsäure wurde sie braun; eine charakteristische Färbung, wie sie Baumann und Preusse für die Bromphenylmercaptursäure und deren Spaltungsproduct, das Bromphenylcystin, beschreiben, trat nicht auf. Das Zink und der Schwefel wurden in ein und derselben Portion bestimmt. Es wurden erhalten 10,3 % Zn. Eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl ergab (in 0,1364 gr.) 4,0 % N.

Grund der starken Linksdrehung, welche die Substanz zeigte, und der reducirenden Eigenschaft nach dem Kochen mit Salzsäure, scheint mir die Annahme berechtigt, dass sie ein Glykuronsäurederivat darstellte. Die sehr starke Indophenolreaction lässt annehmen, dass die andere Componente Paraamidophenol war. Ob es, wie die Aetherschwefelsäure, ein Acetylderivat desselben war, kann man aus der Untersuchung nicht ersehen. Das Glykuronsäurederivat des Acetylamidophenols verlangt 3,92 % N und 9,07 % Zn; das Derivat des nicht acetyliretn Amidophenols verlangt 4,44 % N und 10,33 % Zn. (Wenn man als ätherschwefelsaures Salz eine dem Schwefelgehalte entsprechende Menge der Substanz, sowie Stickstoff und Zink abrechnete, würde sich der Stickstoff des Glykuronsäurederivates zu 3,85 % und der Zinkgehalt des-

selben zu 10 % abschätzen lassen.) Durch fortgesetzte Untersuchungen hoffe ich das Glykuronsäurederivat besser kennen zu lernen.

Von Interesse wäre es auch, die Stoffwechselproducte des Acetphenetidins näher zu verfolgen, weil es nach der bisherigen Kenntniss derselben wahrscheinlich ist, dass sie dieselben wie nach dem Gebrauche von Acetanilid sind.

Dem Herrn Professor P. J. Wising, durch dessen Vermittelung ich das Material erhalten habe, spreche ich hiermit meinen Dank aus.

Stockholm, im Mai 1888.

Ist der Benzolkern im Thierkörper zerstörbar?

Von

Dr. N. Juvalta.

(Aus dem Laboratorium des Professor Bunge in Basel.)

(Der Redaction zugegangen am 10. Juni 1888.)

Die Frage, ob der Benzolkern bei den chemischen Vorgängen im Thierkörper zerstört werden könne, ist immer noch eine offene, obwohl schon viele aromatische Substanzen in dieser Hinsicht untersucht worden sind. Synthetische Processe schützen oft die eingeführten Körper vor weiter gehender Veränderung und anderntheils erschweren sie auch eine möglichst quantitative Durchführung der Versuche.

Nach den Versuchen von Schotten[1]), Baumann[2]) und Baas[3]) scheint es, dass nach Zufuhr von Tyrosin, Phenylamidopropionsäure und Amidozimmtsäure die aromatischen Substanzen im Harn überhaupt nicht vermehrt werden. Aber auch gegen diese Versuche lässt sich noch der Einwand erheben, dass die Fäces nicht untersucht worden sind. Es wäre denkbar, dass der grösste Theil nicht resorbirt worden ist.

Ich glaube ein besonders geeignetes Object zur Verfolgung der Frage nach der Zerstörbarkeit des Benzolkerns in der Phtalsäure gefunden zu haben. Diese geht nach meinen Untersuchungen im Organismus des Hundes keine

---

[1]) Schotten, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 7, S. 23, 1882; Bd. 8, S. 60, 1883.

[2]) Baumann, ebendaselbst, Bd. 10, S. 130, 1886.

[3]) Baas, ebendaselbst, Bd. 11, S. 485, 1887.

Synthesen ein, Phtalylamidoessigsäure liess sich nicht nachweisen, sowie überhaupt kein anderer Körper, der auf eine anderweitige Umwandlung der eingeführten Phtalsäure hingedeutet hätte. Ich stellte mir daher die Aufgabe, die Frage durch genaue quantitative Stoffwechselversuche zu entscheiden.

I. Versuch.

Ein kräftiger Hund von 42 kgr. Körpergewicht wurde, behufs Abgrenzung des Kothes, einen Tag mit Knochen gefüttert; am folgenden Tage wurde er in einen Käfig aus Zinkblech gesperrt, um vor Verlusten gesichert zu sein, und erhielt nun während 2 Tagen, täglich in drei Portionen in Fleisch eingewickelt, im Ganzen 22,4 gr. Pthalsäure als neutrales Natriumsalz. Im Uebrigen genoss das Thier reichlich Fleisch und verhielt sich ganz normal. Nach der Phtalsäureeinnahme folgte wieder ein Tag mit Knochenfütterung, so dass der Fleischkoth sich scharf abtrennen liess. Der Harn wurde bis 36 Stunden nach der letzten Gabe gesammelt, nachdem der zweite Knochenkoth bereits zum Vorschein gekommen war. Harn und Fäces wurden getrennt verarbeitet.

Harn. Der gesammelte Harn betrug 1,7 Liter und zeigte normale Beschaffenheit. Es wurde die ganze Menge in Arbeit genommen, und um auf das Genaueste auf etwa vorhandene Umwandlungsproducte der Phtalsäure fahnden zu können, wurde das System der partiellen Fällung angewendet. Der Harn wurde zunächst mit neutralem essigsauren Blei versetzt, bis kein Niederschlag mehr entstand, dann unter öfterem Umrühren 12 Stunden stehen gelassen, dann filtrirt, der Niederschlag noch zweimal mit je 0,5 Liter Wasser gewaschen und das Waschwasser zum Filtrat (B) gegeben.

Der Bleiniederschlag wurde nun kalt mit Ammoniumcarbonat zerlegt, vom Bleicarbonat abfiltrirt, dieses einmal mit Wasser gewaschen, dann das ammoniakalische Filtrat auf dem Wasserbade bis zum Syrup eingedampft. Der beim Eindampten sauer gewordene Rückstand wurde nun mit absolutem Alkohol erschöpft, um die schleimigen Massen abzuscheiden. Nach Verdampfung des Alkohols unter Zusatz von

etwas Wasser erfolgte beim Erkalten eine ziemlich reichliche Krystallisation von bräunlichen Tafeln, die sich als Ammoniumphtalat erwiesen. Die Krystalle wurden gesammelt, in möglichst wenig Wasser heiss gelöst, dann mit HCl angesäuert und zur Krystallisation hingestellt; die Lösung füllte sich mit langen prismatischen Krystallen, die nach dem Pressen zwischen Fliesspapier und Trocknen auf dem Wasserbade im Röhrchen unter Abgabe von H_2O zu einer gelblichen Flüssigkeit schmolzen, die wie Phtalsäureanhydrit sublimirte, unter Hinterlassung eines unbedeutenden schwarzen Ringes. Das Sublimat war stickstofffrei und schmolz bei 127°.

Die stark dunkel gefärbte Mutterlauge vom Ammoniumphtalat wurde kalt mit HCl angesäuert; es fiel dabei eine krystallinische gelbliche Masse aus, die beim Stehen über Nacht sich kaum vermehrte; die Substanz war etwas stickstoffhaltig und schied sich beim Versuch, sie durch Umkrystallisiren zu reinigen, immer in warzenförmigen, dunklen Aggregaten aus, ich löste sie darum wieder in etwas verdünntem Ammoniak und kochte die braune Lösung kurze Zeit mit gereinigter Thierkohle. Aus der nun fast farblosen Flüssigkeit krystallisirte nach dem Ansäuern reine Phtalsäure.

Die Gesammtmenge der aus diesem Niederschlag gewonnenen Phtalsäure betrug 2,4 gr.

Das Filtrat B wurde zunächst mit NH_3 alkalisch gemacht, dann mit Bleiessig versetzt, so lange eine Fällung entstand, dann 12 Stunden stehen gelassen, hierauf abfiltrirt, der Niederschlag mit kaltem destillirten Wasser nachgewaschen, dann mit H_2S zerlegt. Nach der Filtration wurde das Schwefelblei noch dreimal mit Wasser ausgekocht, die Auszüge zur Syrupdicke eingedampft und ebenfalls mit absol. Alkohol von schleimigen Substanzen getrennt. Der Rückstand vom abdestillirten Alkohol war syrupartig und zeigte wenig Neigung zur Krystallisation, selbst nach dem Ansäuern mit HCl, er wurde darum mit Essigäther ausgeschüttelt, bis dieser nichts mehr löste. Nach dem Verdunsten des Esters blieb eine mit braunen Oeltröpfchen durchsetzte Krystallmasse zurück, die durch Umkrystallisiren aus wenig Wasser unter Zusatz von etwas

reiner Thierkohle sich als Phtalsäure erwies, die Menge betrug nur 0,5 gr.

Der mit Blei vollständig ausgefällte Harn wurde sammt dem Waschwasser mit H_2S entbleit, dann eingeengt bis zum Syrup und dieser wieder in Alkohol gelöst, diesmal ohne Rückstand zu hinterlassen. Aus der alkoholischen Lösung krystallisirte beim Stehen ein Theil vom Harnstoff. Nach dem Abdestilliren vom Alkohol wurde etwas Wasser zugegeben, dann nach dem Erkalten mit HCl stark angesäuert und mit Essigäther wiederholt ausgeschüttelt. Der Rückstand vom abgedunsteten Essigäther stellte eine gelbliche, etwas weiche Masse dar, die zunächst durch Zusammenreiben mit wenig kaltem Wasser feste Consistenz annahm. Der entstandene Brei wurde auf Fliesspapier von der Flüssigkeit befreit, dann in heissem Wasser gelöst und von einigen harzigen Tropfen abfiltrirt, beim Erkalten füllte sich die Lösung mit langen dünnen Nadeln, die das Aussehen und überhaupt die Eigenschaften der Hippursäure hatten, auch das daraus dargestellte Silbersalz hatte die erwartete Zusammensetzung.

	Gefunden:	Berechnet:
Ag	37,92%	37,76%.

Die Menge der erhaltenen Hippursäure betrug 0,37 gr., überstieg also noch nicht die Norm. Dass die gefundene Hippursäure übrigens nicht aus Phtalsäure entstanden ist, zeigte mir ein späterer Versuch, wo der Harn nach länger fortgesetzter ausschliesslicher Fleischnahrung bei Fütterung mit Phtalsäure keine Hippursäure mehr enthielt, wohl aber etwas Kynurensäure.

Fäces. Der gesammelte Koth wurde sammt dem Spülwasser des Käfigs auf dem Wasserbad zur Trockene verdampft, dann durch Behandlung mit Benzol vom Fett befreit, hierauf wieder mit Wasser verrührt, mit Natriumcarbonat bis zur stark alkalischen Reaction versetzt, einige Zeit erwärmt, dann filtrirt durch ein möglichst grobes Filter. Der Rückstand wurde so lange ausgewaschen, bis das Filtrat neutral wurde. Die vereinigten Auszüge wurden auf etwa 1 Liter eingeengt, mit HCl stark angesäuert, dann noch warm

von ausgeschiedenen Flocken abfiltrirt. Das braune Filtrat wurde nun nach dem Erkalten wiederholt mit Amylalkohol ausgeschüttelt, bis dieser sich nicht mehr färbte. Nach dem Abtreiben vom Amylalkohol mit Wasserdampf blieb eine bräunliche, durch kleine Oeltropfen getrübte wässerige Lösung zurück, die zunächst durch Filtriren durch ein nasses Filter möglichst vom Oel getrennt wurde. Das Filtrat wurde nun auf dem Wasserbad zur Trockene verdampft, wobei sich wieder Oeltropfen ausschieden; der braune Rückstand wurde nun wieder in heissem Wasser gelöst, von rückständigen Schmieren abfiltrirt und wieder eingedampft, wobei eine schwach bräunlich gefärbte krystallinische Masse zurückblieb, die aus noch nicht ganz reiner Phtalsäure bestand. Um kleine Verluste zu vermeiden, wurde die Substanz nicht weiter gereinigt, ihre Menge betrug 6,62 gr.

Es wurden also folgende Zahlen gefunden:

Fäces	6,62 gr.	=	29,55 %	der Einnahme.
Harn	2,9 »	=	12,95 »	» »
Verschwunden .	12,88 »	=	57,50 »	» »

II. Versuch.

Derselbe Hund, der zum ersten Versuch gedient hatte, wurde nochmals in gleicher Weise mit der gleichen Menge Phtalsäure gefüttert. Der Harn wurde diesmal jedoch nur zur Hälfte (1,5 Liter von 3 Liter) in Arbeit genommen, auch wurde er, da es sich blos um die Abscheidung der Phtalsäure handelte, diesmal direct mit Bleiessig gefällt und der Bleiniederschlag mit H_2S zerlegt, da nach dem Resultate des ersten Versuches sich alle Phtalsäure im Bleiniederschlag finden musste. Das PbS wurde wiederholt mit Wasser ausgekocht. Auch wurde der mit Blei gefällte Harn nicht weiter berücksichtigt, im Uebrigen blieb sich das Verfahren gleich. Es wurden dabei folgende Zahlen erhalten:

Fäces	5,2 gr.	=	23,21 %.
Harn	1,8 »	=	8,03 »
Verschwunden	15,4 »	=	68,76 »

Da sich im ersten Versuch ausser Phtalsäure kein anderer fremder Bestandtheil im Harn vorgefunden hatte und der

Gedanke an eine Zerstörung des sonst so beständigen Phtalsäuremoleküls nicht recht Platz greifen wollte — denn es war nicht undenkbar, dass sich vielleicht eine Oxyverbindung gebildet hätte, die als gepaarte Schwefelsäure oder als Glycuronsäureverbindung der Abscheidung entgangen wäre —, so habe ich den Phtalsäureharn mit einer vor Beginn dieses Versuches entnommenen Probe normalen Harnes verglichen, jedoch mit negativem Resultat.

Das Verhältniss der gepaarten Schwefelsäure zur Gesammtschwefelsäure, nach Salkowski[1]) bestimmt, stellt sich folgendermassen:

Im normalen Harn:	Im Phtalsäureharn[2]):
1 : 5,8	1 : 9,7.

Auch verhielten sich beide Harne nach dem Kochen mit verd. H_2SO_4 gegen alkalische Kupferoxydlösung negativ.

Es bleibt mir nur noch zu erwähnen übrig, dass ich zur Controlle zu normalem Harn und Koth kleine Mengen Phtalsäure gegeben habe, um die Isolirungsmethode zu prüfen. So wurden aus einem Liter Harn von 0,56 gr. zugesetzter Phtalsäure 0,46 gr. = 82,14 % und aus einer der in den Versuchen verarbeiteten annähernd gleichen Menge Koth von 0,56 gr. 0,47 gr. = 83,93 % reiner Phtalsäure wieder gewonnen.

Es geht also aus diesen Versuchen mit grosser Wahrscheinlichkeit hervor, dass der Benzolkern der Phtalsäure im Organismus des Hundes zerstört wird.

---

1) Salkowski, Virchow's Archiv, Bd. 79, S. 551, 1880.

2) Die Abnahme der gepaarten Schwefelsäuren nach Aufnahme von Phtalsäure ist wahrscheinlich aus der antiseptischen Wirkung derselben auf den Darminhalt zu erklären.

Ueber einige Pflanzenfette[1]).

Von

Dr. H. Jacobson.

(Der Redaction zugegangen am 19. Juni 1888.)

Die zu den Untersuchungen benutzten Fette aus Bohnen-, Erbsen-, Wicken- und Lupinensamen waren in der chemischen Fabrik von Trommsdorf, Erfurt, dargestellt, indem die gepulverten Samen zuerst mit starkem Alkohol extrahirt wurden. Der beim Abdestilliren des Alkohols bleibende Rückstand wurde mit Aether behandelt und so nur der in Aether lösliche Theil der Samen gewonnen.

Die rohen Fette verhielten sich in ihren physikalischen Eigenschaften fast gleich. Sie bildeten zähflüssige, fast schwarz gefärbte Massen von starkem aromatischen Geruch, leicht löslich in Aether, Ligroin, Chloroform, Schwefelkohlenstoff etc. Um fremde zufällige Beimengungen, namentlich um etwa als phosphorsaure Salze vorhandene Phosphorsäure zu entfernen, wurde das Bohnenfett vor der Untersuchung noch einer Reinigung unterworfen, indem es in Aether gelöst, der nach einigem Stehen sich bildende Bodensatz abfiltrirt und der Aether abdestillirt wurde. Diese Operation erwies sich jedoch als unnöthig und unterblieb bei Untersuchung der andern Fette.

Die Fette wurden zuerst der Verseifung mit starker Natronlauge (25 %) unterworfen, welcher Process ziemlich leicht und unter starkem Aufschäumen vor sich ging. Nach

[1]) Inaug.-Dissert., Königsberg 1887.

dem Erkalten wurde die auf der tiefschwarz gefärbten Mutterlauge schwimmende Seifenschicht abgehoben und zur vollständigen Entfernung des Glycerins in siedendem Wasser gelöst, durch Zugabe von Kochsalz gefällt und dann getrocknet, zuerst an der Luft, später bei 40—45°. Die trockene Seife war dunkelgrün gefärbt, ziemlich fest und besass einen angenehmen aromatischen Geruch.

Da Versuche lehrten, dass die Natronseife nicht unbedeutende Mengen einer Substanz an Aether, Ligroin oder Chloroform abgab, wurde sie einer Extraction mit Aether in Mohr'schen Extractionsapparaten unterworfen.

Nachdem die Extraction vollendet, wurde die Seife durch Kochen mit verdünnter Salzsäure zerlegt.

Die freien Fettsäuren bildeten grüne, bei gewöhnlicher Temperatur ziemlich weiche Massen. Ein Versuch, die flüssige Säure, welche nach der Consistenz der Massen in grosser Menge vorhanden sein musste, durch wiederholtes Maceriren mit kleinen Mengen Alkohol und nachheriges starkes Auspressen zu entfernen, musste aufgegeben werden, weil dabei auch der grösste Theil der festen Fettsäuren mit in Lösung ging. Es wurden daher die Fettsäuren durch Behandeln mit einer Lösung von essigsaurem Blei in die Bleisalze übergeführt, getrocknet und eine Extraction mit Aether versucht. Aether löste zwar einen grossen Theil der Bleisalze, doch war es unmöglich, grössere Mengen der so dargestellten Bleisalze zu extrahiren, da dieselben beim Behandeln mit Aether stark aufquellen und schmierige, ganz undurchlässige Massen bilden. Die freien Fettsäuren wurden nun mehrere Stunden mit einem grossen Ueberschuss von Bleioxyd unter Zusatz von etwas Wasser digerirt, wodurch ein Gemenge von Bleiseifen und Bleioxyd erhalten wurde, welches nach dem Erkalten eine ganz harte Masse bildete, welche sich vermöge ihrer Porosität vorzüglich zur Extraction eignete. Durch mehrtägige Behandlung der zerkleinerten Masse mit Aether wurde ein grosser Theil der Bleisalze in Lösung gebracht. Aus dem Rückstande wurden durch Kochen mit Salzsäure die festen Fettsäuren erhalten.

Durch die bisherige Behandlungsweise waren die Rohfette in vier Theile zerlegt, welche nun einzeln untersucht wurden, nämlich in:

1. Seifenmutterlauge,
2. Aetherextract aus der Natronseife,
3. Aetherextract aus der Bleiseife,
4. feste Fettsäuren.

Fett aus Sau-Bohnen.

59 gr. der gepulverten Samen lieferten bei der Extraction mit Aether 0,695 gr. = 1,17 % Fett.

1030 gr. Rohfett mit einem Wassergehalt von 37,93 % = 640 gr. trockenen Fettes werden der Verseifung unterworfen.

1. Seifenmutterlauge.

Die Seifenmutterlauge, welche durch Aufnahme eines Theiles des nicht näher untersuchten Farbstoffes schwarz gefärbt war, musste in erster Linie das Glycerin enthalten. Der Nachweis wurde durch Erhitzen eines kleinen Theiles derselben mit saurem schwefelsaurem Kali, wodurch das Glycerin in das durch seinen stechenden Geruch charakterisirte Acrolein und Wasser zerfällt, geführt.

Bei dem Ansäuern der Mutterlauge trat deutlich der Geruch nach flüchtigen Fettsäuren auf, und zwar deutete der Geruch auf Valeriansäure. Es wurde daher zu der Mutterlauge Schwefelsäure im Ueberschuss gegeben, ein hierbei in geringer Menge entstehender brauner flockiger Niederschlag abfiltrirt und das Filtrat der Destillation unterworfen. Das Destillat besass zwar sehr starken Geruch nach flüchtigen Fettsäuren, reagirte jedoch kaum sauer und auf Zugabe von kohlensaurem Natron konnte keine Kohlensäureentwickelung wahrgenommen werden, weshalb von einer näheren Untersuchung dieser Fettsäuren Abstand genommen werden musste[1]).

---

[1]) Herrn Prof. Ritthausen gelang es, ein Silbersalz dieser flüchtigen Fettsäuren darzustellen, dessen Zusammensetzung auf ein Gemisch von Valeriansäure und Buttersäure schliessen liess.

Nun wurde die Anwesenheit des Lecithins nachzuweisen versucht.

Das Lecithin, nach Diakonow[1]) eine Verbindung des Cholins mit Distearylglycerinphosphorsäure:

$$\begin{array}{l} CH_2 . O . C_{18}H_{35}O \\ | \\ CH\ . O . C_{18}H_{35}O \\ | \\ CH_2 O . PO < {OH \atop O . CH_2CH_2N(CH_3)_3OH,} \end{array}$$

zerfällt beim Kochen mit Säuren oder Basen in Stearinsäure $C_{18}H_{36}O_2$, Cholin $CH_2OHCHN(CH_3)_3OH$ und Glycerinphosphorsäure $C_3H_7O_2 . H_2PO_4$. An Stelle der Stearinsäurereste können im Lecithin auch Palmitinsäure- oder Oelsäurereste treten, und beim Zerfall desselben entstehen dann dementsprechend Palmitinsäure oder Oelsäure.

Enthielt nun das Rohfett Lecithin, so war dieses beim Verseifungsprocess in obiger Weise zerlegt worden, und musste sowohl die Phosphorsäure, als auch das in Wasser sehr leicht lösliche Cholin in die Mutterlauge übergegangen sein.

Einige Wahrscheinlichkeit erhielt die Anwesenheit des Lecithins durch den starken Geruch der Mutterlauge nach Trimethylamin. Das Cholin, nach Baeyer[2]) als Trimethyloxäthylammoniumhydrat aufzufassen, zerfällt nämlich leicht in Trimethylamin und Glykokoll, und ersteres ist von verschiedenen Chemikern[3]) in den Destillationsproducten von Harn, Blut, Leberthran, Heringslake als Zersetzungsproduct des Cholins resp. Lecithins erkannt worden.

Ein Theil der Mutterlauge wurde zur Trockene eingedampft und im Porzellantiegel verascht. Die Asche erwies sich bei ihrer Untersuchung als stark phosphorsäurehaltig.

Um eventuell vorhandenes Cholin zu gewinnen, wurde die mit Schwefelsäure neutralisirte Mutterlauge auf dem Wasserbade bis zur Syrupsconsistenz eingedampft, der Rückstand mit starkem Alkohol ausgekocht und filtrirt. Im Filtrate

---

[1]) Tüb. med.-chem. Unters., Heft 2, 1867, und 3, 1868.

[2]) Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 140, S. 306.

[3]) Dessaignes, Ann., Bd. 100, S. 218; Hoffmann, Ann., Bd. 83, S. 116.

waren etwaiges schwefelsaures Cholin und Glycerin gelöst, während schwefelsaures Natron etc. zurückblieb. In der schwarz gefärbten Lösung erzeugte Platinchlorid einen hellgelben, körnigen schweren Niederschlag.

Dieser wurde abfiltrirt, mit starkem Alkohol ausgewaschen, getrocknet, in Wasser gelöst und durch fractionirte Krystallisation gereinigt. Das gereinigte Salz wurde nun sowohl durch seine Eigenschaften, als auch durch die chemische Analyse als die Platinchloriddoppelverbindung des Cholins erkannt.

Es ist leicht löslich in Wasser, unlöslich in absolutem Alkohol, krystallisirt aus der kalt gesättigten wässerigen Lösung beim langsamen Verdunsten über Schwefelsäure in prachtvollen, orangerothen, rhombischen Tafeln[1]), aus der heiss gesättigten Lösung in orangefarbenen Prismen[2]) und verbreitet beim Verbrennen auf dem Platinblech den charakteristischen Geruch von Trimethylamin.

Analysen.

I. 0,1553 gr. Subst. lieferten 0,0496 gr. Pt.

II. 0,2244 gr. Subst. lieferten 0,0714 gr. Pt.

III. 0,1541 gr. Subst. lieferten 0,049 gr. Pt.

IV. 0,2008 gr. Subst. wurden mit Na_2CO_3 zusammengeschmolzen, die Schmelze gelöst, das metallische Pt abfiltrirt und im Filtrat das Cl bestimmt. Es wurden erhalten: 0,0638 gr. Pt und 0,2712 gr. AgCl.

V. 0,2032 gr. Subst. gaben 0,0651 gr. Pt und 0,2739 gr. AgCl.

VI. 0,219 gr. Subst. gaben bei der Verbrennung mit Natronkalk 0,009518 gr. N.

VII. 0,5134 gr. Subst. gaben 0,021969 gr. N.

VIII. 0,4925 gr. Subst. gaben 0,02121 gr. N.

Berechnet für $[N(CH_3)_3(C_2H_4.OH)Cl]_2PtCl_4$:

	Pt	Cl	N
	31,63	34,55	4,55
I.	31,93	—	. .
II.	31,81	—	—
III.	31,79	—	—
IV.	31,77	33,41	—
V.	32,03	33,34	—
VI.	—	—	4,35
VII.	—	—	4,28
VIII.	—	—	4,37

[1]) Cf. Rinne, Ber., Bd. 18., S. 2520. — Beilstein, Bd. 1, S. 942.

[2]) Cf. Beilstein, Bd. 1, S. 942.

Was die Quantität des gewonnenen salzsauren Cholinplatinchlorids anbetrifft, so wurden aus den Seifenmutterlaugen von 620 gr. Rohfett ca. 15 gr. unreines Platinsalz erhalten, ungefähr der dritte Theil der auf Grund der später anzuführenden Phosphorbestimmung berechneten Menge. (Es wurden 0,74 % P im Fett gefunden.)

Die quantitative Bestimmung des Lecithins geschah nach der bisher gebräuchlichen Methode der Phosphorbestimmung, wobei jedoch Beobachtungen gemacht wurden, welche dieses Verfahren als ein nicht unter allen Umständen sicheres erscheinen lassen.

Es wurden zwei Phosphorbestimmungen ausgeführt; die erste vom durch Aether gereinigten, die andere vom ungereinigten Fett, indem die organische Substanz durch Zusammenschmelzen mit Soda und Salpeter zerstört und aus der Lösung der Schmelze die Phosphorsäure gefällt wurde.

I. 1,8603 gr. trockenen Fettes gaben 0,15715 gr. $Mg_2P_2O_7$.
II. 1,4004 gr. Subst. gaben 0,1241 gr. $Mg_2P_2O_7$.

	I.	II.
P	2,36	2,57.

Hieraus berechnet sich der Lecithingehalt auf:

I.	II.
61,46	66,92.

Nach diesen Analysen befanden sich unter den Verunreinigungen des Rohfettes keine in Aether unlöslichen phosphorhaltigen Producte. Dann aber mussten diese hohen Zahlen auffällig erscheinen, da sie alle bisher gefundenen Werthe für den Phosphorgehalt in Pflanzenfetten so bedeutend überstiegen. Töpler[1]) fand z. B. in folgenden Fetten die nebenstehenden Mengen Phosphor, woraus der Gehalt an Lecithin von der Formel $C_{44}H_{90}NPO_9$ berechnet ist.

Fett aus:	P in % des Fettes:	Lecithin in % des Fettes:
Lupinen	0,29	7,55
Erbsen.	1,17	30,46

---

1) Mittheilungen von Poppelsdorf, 3. Heft, S. 119. — E. Pflüger, Archiv f. Physiol., Bd. 15, S. 278.

Fett aus:	P in % des Fettes:	Lecithin in % des Fettes:
Pferdebohnen	0,72	18,75
Wicken	0,50	13,02
Winterlinsen	0,39	10,15
Engl. Weizen	0,25	6,51
Helena-Weizen	0,28	7,29
Roggen	0,31	8,07
Gerste	0,28	7,29
Hafer	0,44	11,49

Zur Controlle stellte ich das zur Phosphorbestimmung angewandte Fett selbst dar durch Extraction desselben aus den gepulverten Samen durch Aether.

0,7015 gr. Fett lieferten 0,0187 gr. $Mg_2P_2O_7$ = 0,744 % P = 19,27 % Lecithin.

Töpler fand 0,72 % P = 18,75 % Lecithin.

Da bei diesem Verfahren jede Fehlerquelle ausgeschlossen ist und ferner das von mir gefundene Resultat mit dem von Töpler gut übereinstimmt, ist diese Zahl als die massgebende anzusehen, und man ist zu der Annahme gezwungen, dass bei der Gewinnung des Rohfettes durch die erste Extraction desselben aus den Samen mittelst Alkohol Phosphor anderen Ursprungs als aus Lecithin in eine in Aether lösliche Form übergeführt wird und beim Aufnehmen des Alkoholextractes mit Aether in diesen mit übergeht. Welcher Art diese andere Phosphorquelle ist, ist freilich unbekannt.

Nachdem aus dem Abdampfrückstand der Mutterlauge das schwefelsaure Cholin extrahirt war, blieb neben schwefelsaurem Natrium eine dickflüssige schwarze Masse zurück, die leicht löslich in Wasser, in Alkohol aber schwer oder unlöslich war. Nachdem das schwefelsaure Natrium durch mehrmaliges Auskrystallisiren aus concentrirter wässeriger Lösung möglichst entfernt war, wurde die Lösung mit essigsaurem und basisch essigsaurem Blei behandelt, der entstehende Niederschlag abfiltrirt, das Blei ausgefällt und abfiltrirt. Das Filtrat zeigte sich stark phosphorsäurehaltig und enthielt die Phosphorsäure wahrscheinlich als die durch essigsaures Blei fällbare Glycerinphosphorsäure. Die Lösung der nicht durch

essigsaures Blei fällbaren Substanz enthielt nur Spuren von Phosphorsäure.

Von einer weiteren Untersuchung dieser Mutterlaugenbestandtheile wurde abgesehen.

2. Aetherextract aus der Natronseife.

Durch anhaltendes Behandeln der Natronseife mit Aether im continuirlichen Extractionsapparate wurde eine tiefschwarz gefärbte Lösung erhalten, aus welcher bei grosser Concentration nadelförmige, rosettenförmig aneinander gelagerte Krystalle anschossen.

Nach dem Abdestilliren des Aethers hatte der Rückstand eine zähe klebrige Beschaffenheit und war ausser in Aether auch leicht löslich in Chloroform, Schwefelkohlenstoff und siedendem Alkohol, dagegen sehr schwer löslich in kaltem Alkohol.

Da der Farbstoff und der wachsartige Theil der Substanz in kaltem Alkohol leichter löslich waren als der krystallisirende Theil, so wurde eine Reinigung des letzteren durch Umkrystallisiren aus Alkohol versucht. Das Umkrystallisiren, später aus einer Mischung von 1 Theil Aether und 3—4 Theilen Alkohol, wurde so lange fortgesetzt, bis die Substanz völlig farblos war, einen constanten Schmelzpunkt zeigte und ihre elementare Zusammensetzung nicht mehr änderte.

In ihren physikalischen Eigenschaften zeigte die Substanz wesentliche Uebereinstimmung sowohl mit dem Cholesterin des Thierkörpers, als auch mit den bis jetzt untersuchten Cholesterinen pflanzlichen Ursprungs, namentlich auch mit Hesse's[1]) «Phytosterin» aus Erbsen und dem von Reinke und Rodewald[2]) aus Aethalium septicum isolirten «Paracholesterin». Sie ist leicht löslich in Aether, Chloroform und heissem Alkohol und krystallisirt aus den beiden ersten Lösungsmitteln in seideglänzenden wasserfreien Nadeln, aus Alkohol in seideglänzenden wasserhaltigen Blättchen.

In den für das Cholesterin charakteristischen Reactionen mit Salpetersäure und Ammoniak, eisenchloridhaltiger Salz-

---

1) Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 192, S. 175.

2) Ebenda, Bd. 207, S. 229.

säure und mit Chloroform und Schwefelsäure stimmt die aus Bohnenfett erhaltene Substanz vollkommen mit dem thierischen Cholesterin sowohl, als auch mit dem Phytosterin und Quebrachol, welche sich nach Hesse[1]) genau wie thierisches Cholesterin verhalten, überein.

Isocholesterin zeigt nach Schulze[2]) nicht die Reactionen mit Chloroform und Schwefelsäure und mit Eisenchlorid. Die chloroformische Lösung des Paracholesterins von Reinke und Rodewald[3]) wird nach dem Schütteln mit conc. Schwefelsäure anfangs gelblichbraun, welche Farbe nach längerem Stehen in Blau und dann in Violett übergeht, während die Schwefelsäure gelblichbraun, später tiefbraun gefärbt ist und grün fluorescirt, und unterscheidet sich hierin von dem thierischen Cholesterin, dessen Lösung in Chloroform mit Schwefelsäure vom spec. Gew. 1,84 eine nach der Trennung der Flüssigkeiten sofort blutroth gefärbte Lösung giebt, während die darunter stehende Schwefelsäure gelblichbraun gefärbt ist und grüne Fluorescenz zeigt. Nach längerem Stehen geht die Farbe dieser Chloroformlösung in Violett und endlich in Blau über, während die Schwefelsäure sich allmählig dunkler färbt und die Fluorescenz stärker wird. Bei Anwendung einer Schwefelsäure vom spec. Gew. 1,76 war die Chloroformlösung des Bohnencholesterins, übereinstimmend mit Hesse's Beobachtungen am thierischen Cholesterin und Phytosterin, anfangs farblos, wurde aber nach einiger Zeit prächtig purpurroth, welche Farbe längere Zeit anhielt. Die Säure war anfangs farblos und nicht fluorescirend, später schwach gelblich und ohne oder mit nur sehr geringer Fluorescenz.

Das Cholesterin aus Bohnen schmilzt bei 131,5—132,5° (uncorrig.) zu einer farblosen Flüssigkeit und erstarrt beim Erkalten strahlig-krystallinisch. Beim Erhitzen auf höhere Temperatur zieht es sich in öligen Streifen an den Wandungen empor und verbreitet erstickenden Geruch.

---

[1]) Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 211, S. 273 u. 284.
[2]) Journ. f. prakt. Chem., Bd. 7, S. 173.
[3]) Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 207, S. 231.

Das Cholesterin aus Bohnenfett dreht die Ebene des polarisirten Lichtes nach links, gleich den anderen Cholesterinen. Bei der Prüfung der in Chloroform gelösten Substanz im Polarisationsapparate von Schmidt und Haensch wurden folgende Resultate gewonnen:

	I.	II.
p	1,3594	2,4460
d	1,47239	1,45996
t	21,5°	22,5°
l	200 mm.	200 mm.
α	— 3,75°	— 6,6°
$[\alpha]_D$	—32,39°	—31,95°

Hesse[1]) fand für Phytosterin aus Erbsen:

$$[\alpha]_D = -34{,}2^\circ,$$

für normales Cholesterin:

$$[\alpha]_D = -(36{,}61 + 0{,}249\ p).$$

Paschkis[2]) fand für Phytosterin aus Colchicumsamen:

$$[\alpha]_D = -32{,}7^\circ.$$

Reinke und Rodewald fanden für Paracholesterin aus Aethalium septicum:

$$[\alpha]_D = -28{,}88^\circ \text{ und } = -27{,}24^\circ.$$

Aus Alkohol krystallisirt das Cholesterin aus Bohnen in wasserhaltigen Blättchen, giebt jedoch das Krystallwasser leicht ab, zum grossen Theil schon beim Trocknen über Schwefelsäure. Die mehrere Tage über Schwefelsäure getrocknete Substanz enthielt nur noch 2,33% Wasser, während die berechnete Menge 4,61% beträgt. Um das Krystallwasser zu bestimmen, wurde die Substanz mehrere Tage bei gewöhnlicher Temperatur liegen gelassen und dann bei 100—102° getrocknet.

I. 2,2193 gr. Subst. verloren 0,1065 gr. H_2O.
II. 3,3622 gr. Subst. verloren 0,1632 gr. H_2O.

	Berechnet für $C_{26}H_{44}O + H_2O$:	Gefunden: I.	Gefunden: II.
H_2O	4,61	4,79	4,85.

Das bei 100° getrocknete Cholesterin zieht ziemlich rasch wieder etwas Wasser an.

---

[1]) Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 192, S. 177.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 8, S. 356.

Die nach dem Umkrystallisiren bis zum constanten Schmelzpunkt ausgeführte Elementaranalyse I ergab etwas zu wenig C und zu viel H. Die Substanz wurde nun mit Kali ausgekocht und nochmals analysirt, II, jedoch mit demselben Resultat.

I. 0,2163 gr. bei 100° getrockneter Substanz gaben 0,6609 gr. CO_2 und 0,2412 gr. H_2O.

II. 0,1703 gr. Substanz lieferten 0,5213 gr. CO_2 und 0,1907 gr. H_2O.

	Berechnet für $C_{26}H_{44}O$:	Gefunden: I.	Gefunden: II.
C	83,87	83,32	83,48
H	11,83	12,39	12,44

Analysen des Phytosterins und Paracholesterins gaben folgende Resultate:

	Phytosterin aus Erbsen:		Phytosterin aus Colchicumsamen:		Paracholesterin aus Aethalium sept.:
C	84,2	84,0	83,95	84,20	83,53
H	12,1	12,1	11,88	11,16	12,49
H_2O	4,2	4,91	4,86	3,93	5,0

Das Cholesterin aus Bohnenfett stimmt also in seiner elementaren Zusammensetzung mit thierischem Cholesterin einerseits und dem Phytosterin und Paracholesterin andererseits ziemlich überein.

Hesse leitet aus dem Umstande, dass sein aus Erbsen gewonnenes Cholesterin ein geringeres Drehungsvermögen besitzt als das normale Cholesterin, die Verschiedenheit beider Körper ab und legt dem normalen Cholesterin als dem danach nächst niederen Homologen seines Phytosterins, für welches er die Formel $C_{26}H_{44}O$ durch die von ihm gewonnenen analytischen Resultate als erwiesen erachtet, die Formel $C_{25}H_{42}O$ bei, welche schon von Berthelot[1]) aufgestellt und später auch von Latschinoff[2]) gebraucht wurde.

Eine Unterscheidung des normalen Cholesterins von den nächsten Homologen desselben, wenn solche überhaupt existiren, durch die Elementaranalyse ist nicht möglich, da

[1]) Gmelin, Handb. d. org. Chem., Bd. 4, S. 2093.

[2]) Ber. d. d. chem. Gesellsch., Bd. 10, S. 82.

die Differenzen in der procentischen Zusammensetzung innerhalb der Fehlergrenzen liegen würden. Was die Differenz in den Drehungsvermögen anlangt, so sind Reinke und Rodewald der Ansicht, dass diese nicht Grund genug ist, um die bislang angenommene Isomerie der verschiedenen Cholesterine als widerlegt anzusehen. Sie halten daher auch ihr Paracholesterin nur für isomer mit dem normalen Cholesterin und nicht der Formel nach verschieden von demselben.

Schulze[1]) zeigte, dass unter Umständen isomere Cholesterine durch die Eigenschaften der Benzoësäureester unterschieden und von einander getrennt werden können. So schied er das im Wollfett vorkommende Gemenge von Cholesterin und Isocholesterin, indem er den aus Aether in feinen Nädelchen krystallisirenden Benzoësäureisocholesterylester von dem in dicken quadratischen Tafeln sich abscheidenden Benzoësäurecholesterylester abschlemmte. Der Schmelzpunkt der Cholesterinverbindung lag bei 150—151°, während der der Isocholesterinverbindung bei 190—191° gefunden wurde.

Aus dem Umstande nun, dass der Benzoësäureparacholesterylester aus Aether in dünnen, glänzenden, rechteckigen Tafeln, die bedeutend länger als breit, krystallisirt und bei 127—128° schmilzt, schliessen Reinke und Rodewald, dass das Paracholesterin nicht identisch, sondern nur isomer mit dem normalen Cholesterin ist.

Das Phytosterin wurde nicht auf die Eigenschaften seines Benzoësäureesters untersucht.

Das Cholesterin aus Bohnen nähert sich in seinen Eigenschaften dem Paracholesterin und Phytosterin; namentlich stimmt es mit letzterem genau im Schmelzpunkte überein. Um nun seine Beziehungen zum Paracholesterin näher kennen zu lernen, wurde der Benzoësäureester nach dem von Schulze angegebenen Verfahren dargestellt. Ein Theil Cholesterin wurde mit der vierfachen Menge Benzoësäure im zugeschmolzenen Rohr ungefähr 30 Stunden lang auf 180—200° erhitzt. Nach beendigtem Erhitzen wurde die strahlig-krystallinisch

---

[1]) Journ. f. prakt. Chem., N. F., Bd. 7, S. 163.

erstarrte Masse, die sich leicht pulvern liess, zur Entfernung der überschüssigen Benzoësäure mit einer conc. Lösung von kohlensaurem Natron zerrieben, dann in einem Glascylinder mit Aether durchgeschüttelt. Die ätherische Schicht wurde abgehoben, der Aether abdestillirt und der Rückstand mit kleinen Mengen Alkohol ausgekocht, um den unverbunden gebliebenen Theil des Cholesterins zu entfernen. Der gebildete Benzoësäureester blieb als bräunlich gefärbte Masse zurück. Durch Waschen mit kleinen Mengen Aether wurde der färbende Bestandtheil entfernt und nun der Ester durch Umkrystallisiren aus Aether gereinigt.

Der Benzoësäureester des Cholesterins aus Bohnen scheidet sich aus der kalt gesättigten ätherischen Lösung in dünnen, glänzenden, rechteckigen Blättchen aus, die bedeutend länger als breit sind. Er ist schwer löslich in Alkohol, leichter in Aether und Chloroform.

Der Schmelzpunkt wurde bei 145—145,5° (uncorrigirt) gefunden.

0,1809 gr. lufttrockener Substanz gaben bei der Verbrennung 0,549 gr. CO_2 und 0,169 gr. H_2O.

	Berechnet für $\left.\begin{matrix}C_{26}H_{43}\\C_7H_5O\end{matrix}\right> O$:	Gefunden:
C	83,19	82,75
H	10,09	10,39

In der Krystallform unterscheidet sich also der Benzoësäureester des Bohnencholesterins nicht von der des Benzoësäureparacholesterylesters und auch nicht von der des Benzoësäurecholesterylesters, welcher nach Berthelot aus Aether in glänzenden rectangulären Blättchen krystallisirt und in dieser Krystallform auch von Schulze bei rascher Ausscheidung aus Aether erhalten worden ist. Die dicken quadratischen Tafeln, wie sie Schulze beobachtete, konnten hier allerdings auch bei langsamer Verdunstung des Aethers nicht erhalten werden.

Der Schmelzpunkt der Benzoësäureverbindung des Bohnencholesterins (145—145,5°) weicht erheblich von dem der

entsprechenden Paracholesterinverbindung (127—128°) ab, weniger von dem der Cholesterinverbindung (150—151°).

Der Benzoësäureester giebt ebenfalls die Reactionen mit Chloroform und Schwefelsäure und mit Eisenchlorid, jedoch nicht die Reaction mit conc. Schwefelsäure. Durch conc. Schwefelsäure wird der Ester nicht verändert, während Cholesterin augenblicklich schön orangegelb gefärbt wird.

Ein Wasserstoffatom des Cholesterins kann durch Acetyl ersetzt werden. Die Acetylverbindung des Cholesterins aus Bohnenfett wurde durch Kochen desselben mit Essigsäureanhydrid dargestellt, wobei die Bildung der Verbindung leicht vor sich geht. Beim Erkalten der Lösung scheidet sie sich in schönen langen Nadeln aus. Nach dem Trocknen über Kali wurde der Schmelzpunkt bestimmt und bei 125—126° (uncorrig.) gefunden. Beim Umkrystallisiren aus absolutem Alkohol, aus welchem sich die Substanz ebenfalls in schönen Nadeln ausscheidet, blieb der Schmelzpunkt unverändert.

Das Acetylcholesterin ist leicht löslich in Aether und Chloroform, etwas schwerer in Alkohol, und krystallisirt wasserfrei.

Die Beobachtung von Löbisch[1]), welcher den Schmelzpunkt der Acetylverbindung aus thierischem Cholesterin bei 92° fand, konnte ich nicht bestätigen. Zwei von mir durch Kochen von Cholesterin aus Gallensteinen mit Essigsäureanhydrid dargestellte Präparate, welche sowohl aus Essigsäureanhydrid, als auch aus Alkohol in denselben Formen krystallisirten, wie die Acetylverbindung des Bohnencholesterins, schmolzen bei 111—112°.

Der Essigsäureisocholesterinäther schmilzt nach Schulze unter 100°.

Wenn nun auch die Krystallform keine Unterscheidung zwischen normalem und Bohnencholesterin zulässt, so macht es auch hier die Differenz der Schmelzpunkte der Acetylverbindungen wahrscheinlich, dass beide Substanzen nicht identisch, sondern nur isomer sind. Vom Acetylisocholesterin,

---

1) Ber. d. d. chem. Gesellsch., Bd. 5, S. 513.

welches sich aus Alkohol in unkrystallinischen Massen abscheidet, unterscheidet sich die Acetylverbindung des Bohnencholesterins sowohl in Krystallform, als auch im Schmelzpunkt.

3. Aetherextract aus der Bleiseife.

Eine eingehende Untersuchung der durch Aether der Bleiseife in grosser Menge entzogenen Substanz unterblieb. In Aether löslich sind nur die Bleisalze der Oelsäure und Erucasäure. Nun deutete aber das ganze Verhalten der aus dem Bleisalz freigemachten Säure, besonders die bei gewöhnlicher Temperatur flüssige Beschaffenheit derselben (Erucasäure schmilzt bei 34°, Oelsäure bei 14°) auf Oelsäure. Da ferner die flüssige Säure des Wiesenheufettes und Haferstrohfettes von König[1]) als Oelsäure erkannt, Erucasäure aber in Pflanzenfetten erst in wenigen Fällen nachgewiesen ist, kann wohl auch die flüssige Säure des Bohnenfettes als Oelsäure betrachtet werden.

Die ungefähre Quantität der Oelsäure wurde durch Gewichtsdifferenz der gesammten Fettsäuren und der festen Fettsäuren bestimmt.

Das angewandte Fett (trocken) wog	640 gr.
Extract aus der Natronseife	66 gr.
Also waren Fette	574 gr.
Diesen (als Neutralfette betrachtet) entsprechen Fettsäuren	550 gr.
Feste Fettsäuren wurden bei der partiellen Fällung erhalten	63 gr.
Mithin Oelsäure	487 gr.

Hiernach berechnet sich der Gehalt der Rohfettes:

an Oelsäure auf	76 %
an festen Fesstäuren auf	9.8 %

Ferner ist hiernach der Gehalt der Fettsäuren:

an Oelsäure	88,5 %
an festen Fettsäuren	11,5 %

Diese Zahlen geben allerdings nur eine ungefähre Vorstellung von den Mengenverhältnissen der einzelnen Bestandtheile, da beim Operiren mit grossen Mengen Substanzverluste unvermeidlich sind.

---

[1]) Landw. Versuchsstat., Bd. 17, S. 10.

4. Feste Fettsäuren.

Die nach der Extraction des ölsauren Bleies aus den zurückgebliebenen fettsauren Bleisalzen gewonnenen festen Fettsäuren wurden mehrmals auf Salzsäure und Wasser umgeschmolzen und bildeten nun eine dunkelbraune, ziemlich feste Masse, welche einen Schmelzpunkt von 50,5° und einen Erstarrungspunkt von 47° zeigte.

Diese wurden nun in so viel Alkohol gelöst, dass sich in der Kälte nichts ausschied, durch Filtration die unlöslichen Bestandtheile entfernt und nun nach den Vorschriften von Heintz[1]) die fractionirte Fällung ausgeführt, indem zuerst eine alkoholische Lösung von essigsaurer Magnesia, dann eine Lösung von essigsaurem Baryt und schliesslich eine solche von essigsaurem Blei als Fällungsmittel benutzt wurde.

Es wurde folgende Serie von Fällungen erhalten:

Serie A.

I. Fällung.	Schmelzpunkt	52,5°,	Erstarrungspunkt	50,5°
II. »	»	54°,	»	52°
III. »	»	59,5°,	»	56°
IV. »	»	60,0°,	»	57°
V. »	»	60—61°,	»	57,5°
VI. »	»	60,25°,	»	56,5°
VII. »	»	55°,	»	53°

Mit den ersten Säureportionen wurde aus der stark dunkel gefärbten Lösung der grösste Theil des Farbstoffes niedergeschlagen, weshalb dieselben ein fast schwarzes Aussehen hatten.

Dass die ersten beiden Fällungen einen niedrigeren Schmelzpunkt zeigten als die folgenden, während doch naturgemäss die Säuren von grösserem Molekulargewicht und höherem Schmelzpunkt sich zuerst als Magnesiumsalze ausscheiden, war ein Beweis, dass die Säure mit höchstem Schmelzpunkt nur in geringer Menge vorhanden war, denn sie war in der ersten Fällung offenbar schon gemengt mit einer niedriger schmelzenden Säure.

---

[1]) Journ. f. prakt. Chem., Bd. 66, S. 5.

Bei den späteren Fällungen blieb der Schmelzpunkt ziemlich constant, was auf die Einheitlichkeit der Säureportionen schliessen liess.

Die erste und zweite Fällung wurden nun wiederum fractionirt gefällt und gaben je zwei Fällungen.

Fraction I gab folgende Serie B:

I. Fällung.	Schmelzpunkt 52,5°,	Erstarrungspunkt	50,5°
II. »	» 58°,	»	53,5°

Fraction II der Serie A gab die Serie C:

I. Fällung.	Schmelzpunkt 53°,	Erstarrungspunkt	51₀
II. »	» 58,5°,	»	53,5°

Da durch fractionirte Fällung der Schmelzpunkt der zuerst ausfallenden Säure nicht zu erhöhen war, wurden die ersten Fällungen der Serien B und C, welche nahezu denselben Schmelzpunkt zeigten, vereinigt und aus Alkohol umkrystallisirt. Der Schmelzpunkt stieg nun sehr schnell, ging über den der Stearinsäure hinaus und blieb endlich bei 73,5° constant.

Der Erstarrungspunkt lag bei 72°.

In der Elementaranalyse gaben:

0,1361 gr. der bei 100° getrocketen Substanz 0,3904 gr. CO_2 und 0,1622 gr. H_2O.

C 78,25
H 13,24

Leider war beim Umkrystallisiren die Substanz so zusammengeschmolzen, dass eine Prüfung auf ihre Homogenität durch fractionirte Fällung nicht ausgeführt werden konnte. Nach der Elementaranalyse würde diese Säure mit der von Stürcke[1]) im Carnaubawachs gefundenen Säure von der Formel $C_{24}H_{48}O_2$ übereinstimmen, welche bei 72,5° schmilzt, bei 71,8° erstarrt, 78,26% C und 13,04% H enthält.

Mit dieser Säure hat die Säure aus Bohnenfett auch die Eigenschaften gemein, dass sie, aus geschmolzenem Zustand wieder erstarrt, nicht krystallinische Struktur zeigt und sich aus Alkohol als fein krystallinisches Pulver ausscheidet,

---

1) Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 223, S. 307.

jedoch lassen die ausgeführten Untersuchungen einen sicheren Schluss auf die Natur dieser Säure noch nicht zu.

Alle Versuche, Stearinsäure nachzuweisen, führten zu keinem Resultat und solche kann nur in sehr geringen Mengen vornanden sein. Der Nachweis event. vorhandener Stearinsäure scheiterte stets an der Unausführbarkeit der wiederholten fractionirten Fällung und dem grossen Substanzverlust beim häufigen Umkrystallisiren.

Die Fractionen III, IV, V und VI der Serie A wurden vereinigt und aus Alkohol umkrystallisirt. Schon nach zweimaligem Umkrystallisiren war der Schmelzpunkt auf 62° gestiegen und blieb constant.

Diese Säure vom Schmelzpunkt 62° krystallisirte schön aus Alkohol, erstarrte schön krystallinisch und erwies sich bei der Elementaranalyse als Palmitinsäure.

I. 0,2074 gr. Subst. lieferten 0,5691 gr. CO_2 nnd 0,2362 gr. H_2O.
II. 0,2586 gr. Subst. lieferten 0,7087 gr. CO_2 und 0,2972 gr. H_2O.

	Berechnet für $C_{16}H_{32}O_2$:	Gefunden: I.	II.
C	75,00	74,84	74,74
H	12,50	12,65	12,57

Niedriger als Palmitinsäure schmelzende Säuren konnten nicht aufgfunden werden. Selbst die letzte Fraction der Serie A, deren Schmelzpunkt (55°) wahrscheinlich durch etwas Oelsäure so herabgedrückt war, zeigte schon nach zweimaligem Umkrystallisiren den Schmelzpunkt der Palmitinsäure.

Von den festen Fettsäuren macht die Palmitinsäure bei Weitem den grössten Theil aus, während die höher schmelzende Säure quantitativ sehr zurücktritt.

Was die Art des Vorkommens der Fettsäuren im Bohnenfett anbetrifft, so ist es nicht unwahrscheinlich, dass dieselben ausser als Glyceride und Bestandtheil des Lecithins zum Theil auch als zusammengesetzte Aether des Cholesterins darin vorhanden sind.

Die Ausführung der Untersuchung des Wicken-, Erbsen- und Lupinenfettes geschah in derselben Weise wie beim Bohnenfett.

Fett aus Wicken.

Wickensamen enthalten 3 % Fett. 500 gr. Fett mit einem Wassergehalt von 22,8 % = 386 gr. trockenen Fettes wurden der Verseifung mit Natronlauge unterworfen. Aether entzog der Seife 25 gr. Substanz = 6,47 % des angewandten wasserfreien Fettes.

1. Seifenmutterlauge.

Flüchtige Fettsäuren schienen auch hier nur in sehr geringer Menge vorhanden zu sein, weshalb nicht weiter darauf untersucht wurde.

Da in der Seifenmutterlauge Phosphorsäure nachgewiesen werden konnte, musste das Wickenfett Lecithin enthalten haben, und es gelang auch, eine geringe Menge salzsauren Cholinplatinchlorids darzustellen. Da das Wickenfett schon 10 Jahre aufbewahrt worden war, als ich es zur Untersuchung benutzte, war wahrscheinlich der grösste Theil des Lecithins resp. Cholins zersetzt worden, denn nach dem Phosphorgehalt müsste es nicht unbedeutende Mengen davon enthalten.

0,16925 gr. der gereinigten Substanz lieferten 0,0531 gr. Pt und 0,2374 gr. AgCl.

	Berechnet für $(C_5H_{14}NOCl)_2PtCl_4$:	Gefunden:
Pt	31,63	31,37
Cl	34,55	34,69

Bei der Phosphorbestimmung gaben:

2,3341 gr. trockenes Fett 0,0671 gr. $Mg_2P_2O_7$.

	P 0,80 % = 20,83 %	Lecithin.
Töpler fand	P 0,50 » = 13,02 »	»

2. Aetherextract aus der Natronseife.

Die der Natronseife durch Aether entziehbare Masse bestand auch hier aus einem wachsartigen und einem krystallisirenden Theil. Schon nach einmaligem Umkrystallisiren schieden sich aus Alkohol schöne perlmutterglänzende Blättchen aus, während die wachsartige Substanz gelöst blieb.

Die Blättchen stimmten in ihrem Verhalten gegen Lösungsmittel, in Krystallform und in den Reactionen vollständig mit dem aus Bohnenfett erhaltenen Cholesterin überein.

Bei der Prüfung der specifischen Drehung der in Chloroform gelösten wasserfreien Substanz wurden in 3 Beobachtungsreihen folgende Werthe erhalten:

	I.	II.	III.
p	1,34126	3,09087	1,18612
d	1,4729	1,4585	1,47128
t	20,5°	20,5°	20,5°
l	200 mm.	200 mm.	200 mm.
α	— 3,65°	— 8,5°	— 3,25°
$[\alpha]_D$	—31,94°	—32,60°	—32,27°

I. 0,28 gr. der lufttrockenen Substanz verloren bei 100° 0,013 gr. H_2O.
II. 0,2464 gr. Subst. verloren 0,0118 gr. H_2O.

	Berechnet für $C_{26}H_{44}O + H_2O$:	Gefunden: I.	II.
H_2O	4,61	4,64	4,76

2,1942 gr. bei 100° getrockneter Substanz, in einem Tiegel an der Luft stehen gelassen, nahmen auf:

in 1½ Tagen 0,0536 gr. = 2,44 % H_2O,
in 3 Tagen 0,0544 gr. = 2,48 % H_2O.

Die Elementaranalyse gab folgende Resultate:

I. 0,1769 gr. Subst. lieferten 0,5407 gr. CO_2 und 0,1985 gr. H_2O.
II. 0,2208 gr. Subst. lieferten 0,676 gr. CO_2 und 0,2416 gr. H_2O.
III. 0,1615 gr. Subst. lieferten 0,494 gr. CO_2 und 0,1777 gr. H_2O.

	Berechnet für $C_{26}H_{44}O$:	Gefunden: I.	II.	III.
C	83,87	83,44	83,49	83,42
H	11,83	12,46	12,15	12,22

Das Cholesterin aus Wicken schmilzt bei 134—135° (uncorrigirt).

Der Benzoësäureester gleicht in Krystallform und Verhalten gegen Lösungsmittel vollkommen dem betreffenden Ester aus Bohnencholesterin. Sein Schmelzpunkt liegt bei 147°.

Bei der Elementaranalyse gaben:

0,1749 gr. Substanz 0,5317 gr. CO_2 und 0,166 gr. H_2O.

	Berechnet für $\frac{C_{26}H_{43}}{C_7H_5O} > O$:	Gefunden:
C	83,19	82,91
H	10,09	10,54

Die Acetylverbindung des Wickencholesterins krystallisirt sowohl aus Essigsäureanhydrid, als auch aus Alkohol in prismatischen Nadeln, welche bei 119—120° schmelzen.

4. Feste Fettsäuren.

Die nach der Extraction des ölsauren Bleies aus den zurückgebliebenen Bleisalzen freigemachten Fettsäuren bildeten eine sehr weiche, schmierige Masse. Diese wurde in Alkohol gelöst, Unlösliches abfiltrirt und zur partiellen Fällung geschritten; aber weder durch essigsaure Magnesia, noch durch essigsauren Baryt oder essigsaures Blei konnten feste Niederschläge erhalten werden. Stets fand Abscheidung einer öligen, übelriechenden Masse statt, die beim Filtriren durch das Filter ging, und es war daher eine Untersuchung der festen Fettsäuren leider unmöglich. Ich vermuthe, dass das Fett bei dem langen Aufbewahren tiefgehende Veränderungen erlitten hatte. Wahrscheinlich kommen auch im Wickenfett die Fettsäuren zum Theil als zusammengesetzte Aether des Cholesterins vor.

Fett aus Erbsen.

Erbsen enthalten 1,79 % Fett.

Zur Untersuchung wurden 1550 gr. Fett mit 44,53 % Wasser = 860 gr. trockenen Fettes angewandt.

1. Seifenmutterlauge.

Auch hier gelang es, aus den Seifenmutterlaugen eine geringe Menge eines Platindoppelsalzes darzustellen, das durch seine Eigenschaften und durch die Analyse als salzsaures Cholinplatinchlorid erkannt wurde.

0,1244 gr. Substanz lieferten 0,0399 gr. Pt.

	Berechnet für $(C_5H_{14}NOCl)_2PtCl_4$:	Gefunden:
Pt	31,63	32,07

Die Phosphorbestimmung im Erbsenfett gab folgendes Resultat:

1,8567 gr. trockenes Fett gaben 0,1283 gr. $Mg_2P_2O_7$.
P 1,93 % = 50,25 % Lecithin.
Töpler fand P 1,17 » = 30,46 » »

Flüchtige Fettsäuren schienen hier zwar in etwas grösserer Menge vorhanden zu sein, als im Bohnen- und Wickenfett, jedoch nicht in zu näherer Untersuchung hinreichender Menge.

2. Aetherextract aus der Natronseife.

Die aus der Natronseife extrahirte Masse wog ca. 70 gr. und betrug also ca. 8 % des angewandten trockenen Fettes. Sie bestand ebenfalls aus einem krystallirenden und einem zähflüssigen Theil und verhielt sich anfangs beim Umkrystallisiren aus Aetheralkohol wie die aus Bohnenfettseife extrahirte Masse. Nach mehrmaligem Umkrystallisiren wurden über 20 gr. mässig reines Cholesterin erhalten. Dieses wurde behufs weiterer Reinigung wieder in Aetheralkohol gelöst und schied sich nun nicht mehr in Krystallen, sondern in gallertartigen Massen, die sich sehr schwer filtriren liessen, aus, und der aus der Lösung sich ausscheidende Theil, der am reinsten sein sollte, zeigte stets einen auffallend niedrigen und nach jedesmaligem Umkrystallisiren sich niedriger stellenden Schmelzpunkt, während die nach jedesmaligem Umkrystallisiren durch Abdestilliren der Mutterlauge gewonnenen Portionen sehr schön in den Formen des Cholesterins krystallisirten und bei derselben Temperatur schmolzen.

Hieraus ging hervor, dass neben dem Cholesterin noch ein zweiter, niedriger als dies schmelzender Körper vorhanden war, der das Cholesterin am Krystallisiren hinderte und seinen Schmelzpunkt erniedrigte.

Nach noch mehrmaligem Behandeln des letzten Products mit grossen Mengen Aetheralkohol blieb eine kleine Quantität einer aus Alkohol und Aether fein krystallinisch sich ausscheidenden und in beiden Lösungsmitteln schwer löslichen Substanz zurück, die bei 80,5—81,5° schmolz und

diesen Schmelzpunkt auch nach dem Auskochen mit Kali beibehielt.

Bei der Elementaranalyse der bei 100° getrockneten Substanz gaben:

0,20225 gr. Subst. 0,6112 gr. CO_2 und 0,2524 gr. H_2O.

C 82,37
H 13,86

Um etwa noch vorhandenes Cholesterin zu entfernen, wurde die Substanz aus Aether umkrystallisirt. Der Schmelzpunkt lag unverändert bei 80,5—81,5° und auch die procentische Zusammensetzung war dieselbe geblieben.

0,1611 gr. Subst. lieferten 0,4857 gr. CO_2 und 0,201 gr. H_2O.

C 82,21
H 13,84

Die Unverseiflichkeit der Substanz liess auf die Alkoholnatur schliessen. Nach Schmelzpunkt und procentischer Zusammensetzung liegt sie dem Ceryl- und Myricylalkohol am nächsten.

	Cerylalkohol:	Myricylalkohol:	Alkohol aus Erbsen:
Schmelzpunkt	79°	85°	80,5 —81,5°
C	81,81	82,56	82,37—82,21
H	14,14	14,15	13,86—13,84

Die Elementaranalyse allein vermag bei dem hohen Molekulargewicht keine sichere Entscheidung über die Zusammensetzung zu geben, jedoch deuten Schmelzpunkt und Krystallform mit ziemlicher Sicherheit auf Cerylakohol, da der Myricylalkohol nach Stürcke[1]) aus Alkohol in seideglänzenden Blättchen krystallisirt.

Leider konnten wegen Substanzmangel die über die Natur des Alkohols entscheidenden Versuche, nämlich Ueberführung in die correspondirende Säure durch Erhitzen mit Natronkalk und Messung des entweichenden Wasserstoffes[2]), nicht ausgeführt werden. Dann aber stehen nach Schwalb[3]) die Formeln für die betreffenden Alkohole noch gar nicht

1) Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 223, S. 294.
2) Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 223, S. 269.
3) Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 235, S. 149.

sicher fest. Er schwankt bei Cerylalkohol zwischen den Formeln $C_{27}H_{56}O$ und $C_{26}H_{54}O$ und meint, dass die aus verschiedenen Substanzen (Bienenwachs und Carnaubawachs) dargestellten Myricylalkohole verschiedene Zusammensetzung und die aus ihnen dargestellten Säuren verschiedene Schmelzpunkte haben.

Aus den Mutterlaugen des Cerylalkohols wurde durch Abdestilliren des Aetheralkohols das Cholesterin gewonnen, welches in seinem Verhalten gegen Lösungsmittel und in seinen Reactionen vollkommen dem Bohnencholesterin glich.

Die optische Prüfung der chloroformischen Lösung ergab folgende Werthe:

	I.	II.
p	1,7317	4,4479
d	1,4717	1,4508
t	19,5°	21°
l	200 mm.	200 mm.
α	— 4,5°	—11,35°
$[\alpha]_D$	—30,529°	—30,409°

Beim Erhitzen der lufttrockenen Substanz auf 100° verloren:

I. 4,628 gr. Substanz 0,2261 gr. H_2O,
II. 2,382 gr. Substanz 0,112 gr. H_2O.

	Berechnet für $C_{26}H_{44}O + H_2O$:	Gefunden: I.	II.
H_2O	4,61	4,88	4,74

Bei der Elementaranalyse der wasserfreien Substanz gaben:

0,195 gr. Substanz 0,5963 gr. CO_2 nnd 0,212 gr. H_2O.

	Berechnet für $C_{26}H_{44}O$:	Gefunden:
C	83,87	83,40
H	11,83	12,05

Das Cholesterin aus Erbsenfett schmilzt bei 132—133° (uncorrigirt).

Der Benzoësäureester des Cholesterins aus Erbsenfett stimmt in der Krystallform vollständig mit der entsprechenden Verbindung aus Bohnen- und Wickenchole-

sterin und Paracholesterin überein. Sein Schmelzpunkt liegt bei 145—146° (uncorrigirt).

Die Elementaranalyse ergab die nach der Formel erwartete Zusammensetzung.

0,15025 gr. Subst. lieferten 0,45825 gr. CO_2 und 0,1421 gr. H_2O.

	Berechnet für $\frac{C_{26}H_{43}}{C_5H_7O} > O$:	Gefunden:
C	83,19	83,18
H	10,09	10,51

Die Acetylverbindung des Erbsencholesterins krystallisirt sowohl aus Essigsäureanhydrid als auch aus Alkohol in kleinen Nadeln, die bei 117—118° zu einer farblosen Flüssigkeit schmelzen.

3. Feste Fettsäuren.

Um die höher schmelzenden festen Fettsäuren in möglichster Reinheit zu bekommen, namentlich um sie von dem lästigen Farbstoff zu befreien, wurde das Gemenge der Säuren mehrmals in nicht zu grossen Mengen 80procentigen Alkohols gelöst und der in der Kälte sich ausscheidende Theil jedesmal abfiltrirt und mit Alkohol ausgewaschen. Hierdurch wurde ein in Alkohol schwerer und ein darin leichter löslicher, in den Mutterlaugen gelöst gebliebener Theil erhalten.

Der schwerer lösliche, ziemlich farblose Theil der Fettsäuren gab bei der fractionirten Fällung folgende Fällungen:

Serie A.

I.	Fällung.	Schmelzp.	65—66°,	Erstarrungsp.	64°
II.	»	»	55.5°,	»	52,5°
III.	»	»	57,5°,	»	54°
IV.	»	»	60,75°,	»	56,5°
V.	»	»	62°,	»	59°
VI.	»	»	62°,	»	59,5°

Fraction II und III der Serie A wurden vereint einer neuen Fällung unterworfen; dies gab die Serie B:

I.	Fällung.	Schmelzp.	54,5°,	Erstarrungsp.	52,5°
II.	»	»	56,5°,	»	54,5°
III.	»	»	56,5°,	»	54,5°
IV.	»	»	62,0°,	»	58,0°

Fraction I, II und III der Serie B gaben die neue Serie C:

I. Fällung.	Schmelzp.	56°,	Erstarrungsp.	53,5°
II.	»	» 58°,	»	56°
III.	»	» 56,5°,	»	53,5°

Fraction I der Serie A, die nach dem hohen Schmelzpunkt frei von niedrig schmelzenden Säuren zu sein schien, wurde, da der geringen Menge wegen weitere fractionirte Fällung nicht ausführbar war, durch Umkrystallisiren zu reinigen versucht. Der Schmelzpunkt wurde dadurch bedeutend erhöht und lag nach den einzelnen Operationen bei 69—70°, 72°, 74—75°, 74—75°. Leider wurde auch hier die Säuremenge auf ein Minimum reducirt und eine Prüfung der Substanz auf ihre Homogenität durch partielle Fällung war unmöglich. Es konnte nur die procentische Zusammensetzung dieser bei 74—75° schmelzenden und bei 73,5° erstarrenden Säure ermittelt werden.

0,1506 gr. Subst. lieferten 0,4247 gr. CO_2 und 0,1707 gr. H_2O.

	Berechnet für $C_{20}H_{40}O_2$:	Gefunden:
C	76,92	76,91
H	12,82	12,59

Nach Elementaranalyse und Schmelzpunkt würde diese Säure aus Erbsenfett mit Arachinsäure übereinstimmen, welche die Formel $C_{20}H_{40}O_2$ hat und bei 75° schmilzt, doch scheidet sich diese Säure stets als gallertartige, schwer filtrirbare Masse ab, während die Arachinsäure in Blättchen krystallisirt.

Fraction IV der Serie B, mit dem Schmelzpunkt 62°, behielt diesen beim Umkrystallisiren bei, bestand also aus Palmitinsäure.

Aus Fraction III der Serie C wurde nach einigem Umkrystallisiren die bei 62° schmelzende Palmitinsäure erhalten.

0,1689 gr. Subst. lieferten 0,4639 gr. CO_2 und 0,1916 gr. H_2O.

	Berechnet:	Gefunden:
C	75,00	74,95
H	12,50	12,60

Fraction I und II der Serie C lieferten ganz geringe Mengen über 70° schmelzender Säure.

Hiernach scheint auch hier Stearinsäure gar nicht oder nur in Spuren vorhanden zu sein.

Fraction IV, V und VI der Serie A wurden vereinigt und aus Alkohol umkrystallisirt. Der Schmelzpunkt lag nach einmaligem Umkrystallisiren bei 62° und wurde durch Wiederholung dieser Operation nicht geändert.

Die Elementaranalyse ergab die Zusammensetzung der Palmitinsäure.

I. 0,2601 gr. Subst. lieferten 0,7133 gr. CO_2 und 0,2907 gr. H_2O.
II. 0,19025 gr. Subst. lieferten 0,5218 gr. CO_2 und 0,2142 gr. H_2O.

	Berechnet für $C_{16}H_{32}O_2$:	Gefunden: I.	II.
C	75,00	74,78	74,79
H	12,50	12,41	12,50

Die beim wiederholten Lösen der festen Fettsäuren in Alkohol erhaltenen Mutterlaugen wurden vereinigt und die darin gelösten Säuren ebenfalls fractionirt gefällt.

I.	Fällung.	Schmelzp.	58,5°,	Erstarrungsp.	55,5°
II.	»	»	58,5°,	»	55,5°
III.	»	»	60°,	»	56°
IV.	»	»	58°,	»	55°
V.	»	»	53°,	»	—

Die Fractionen I, II, III und IV mit nahezu gleichem Schmelzpunkte wurden vereinigt und aus Alkohol umkrystallisirt. Es wurde wieder die bei 62° schmelzende Palmitinsäure erhalten.

Fraction V zeigte ebenfalls schon nach einmaligem Umkrystallisiren den Schmelzpunkt der Palmitinsäure und behielt denselben auch bei.

Die Quantität der Fettsäuren im Erbsenfett berechnet sich folgendermassen:

Angewandtes Fett (trocken)		860 gr.
Extract aus der Natronseife	ca.	70 gr.
Also Fette		790 gr.
Diesen (als Neutralfette betrachtet) entsprechen Fettsäuren		756 gr.
Bei der partiellen Fällung wurden feste Fettsäuren erhalten	ca.	64 gr.
Also flüssige Fettsäuren		692 gr.

Hiernach berechnet sich der Gehalt des Rohfettes:
an festen Fettsäuren auf. . . . . 7,44 %
an Oelsäure auf . . . . 80,46 %

Ferner beträgt hiernach der Gehalt der Fettsäuren:
an festen Fettsäuren . . . . 8,46 %
an Oelsäure . . . . 91,54 %

Die festen Fettsäuren bestehen fast ganz aus Palmitinsäure und enthalten nur geringe Mengen einer bei 74—75° schmelzenden Säure.

Fett aus Lupinen.

Lupinen enthalten 5 % Fett.

Zur Untersuchung wurden 1250 gr. Fett mit einem Wassergehalt von 25,64 %, entsprechend 930 gr. trockenen Fettes, angewandt.

1. Seifenmutterlauge.

Beim Ansäuern der Seifenmutterlauge trat der Geruch nach flüchtigen Fettsäuren viel weniger stark auf, als dies bei der Untersuchung der anderen Fette beobachtet war.

Das auch hier in geringer Menge gewonnene Platindoppelsalz entsprach in Krystallform und Zusammensetzung dem salzsauren Cholinplatinchlorid.

0,31625 gr. Substanz gaben 0,0993 gr. Pt und 0,4371 gr. AgCl.

	Berechnet für $(C_5H_{14}NOCl)_2PtCl_4$:	Gefunden:
Pt	31,63	31,39
Cl	34,55	34,31

Die Phosphorbestimmung im Lupinenfett gab folgendes Resultat:

I. 2,8029 gr. Fett gaben 0,1921 gr. $Mg_2P_2O_7$.
II. 2,0483 gr. Fett gaben 0,141 gr. $Mg_2P_2O_7$.

I.	1,91 % P	= 49,73 %	Lecithin.
II.	1,92 » »	= 50,00 »	»
Töpler fand	0,29 » »	= 7,55 »	»

2. Aetherextract aus der Natronseife.

Aus der Natronseife wurden durch Aether ca. 100 gr. der theils wachsartigen, theils krystallisirenden Substanz extrahirt, also ca. 10,5 % des angewandten trockenen Fettes.

Nach mehrmaligem Umkrystallisiren wurden ca. 30 gr. mässig reines Cholesterin erhalten, welches sich bei der weiteren Reinigung genau so verhielt, wie die entsprechende Substanz aus Erbsenfett; es schied sich nicht mehr in Krystallen aus und sein Schmelzpunkt sank bedeutend. Nachdem die Substanz noch zweimal in grossen Mengen Aetheralkohol gelöst worden, war der Schmelzpunkt der in sehr geringer Menge übrig bleibenden Substanz auf 80—80,5° gesunken und blieb beim Umkrystallisiren aus Aether unverändert.

Dieser aus Lupinenfett erhaltene Alkohol gleicht vollkommen dem entsprechenden Product aus Erbsenfett und zeigt ebenfalls den Schmelzpunkt, die Krystallform und die Zusammensetzung des Cerylalkohols.

I. 0,1328 gr. der bei 100° getrockneten Substanz gaben 0,3983 gr. CO_2 und 0,1623 gr. H_2O.

II. 0,13525 gr. Subst. gaben 0,4058 gr. CO_2 und 0,1658 gr. H_2O.

	Berechnet für $C_{27}H_{56}O$:	Gefunden: I.	II.
C	81,81	81,77	81,85
H	14,14	13,57	13,60

Das Lupinencholesterin gleicht im Verhalten gegen Lösungsmittel, in Krystallform und in den Reactionen vollkommen den früher beschriebenen Cholesterinen.

Beim Erhitzen der lufttrockenen Substanz auf 100° verloren:

I. 4,4895 gr. derselben 0,194 gr. H_2O,
II. 3,4044 gr. derselben 0,1645 gr. H_2O.

	Berechnet für $C_{26}H_{44}O + H_2O$:	Gefunden: I.	II.
H_2O	4,61	4,32	4,83

0,1965 gr. trockener Substanz lieferten 0,6052 gr. CO_2 und 0,2113 gr. H_2O.

	Berechnet für $C_{26}H_{44}O$:	Gefunden:
C	83,87	84,00
H	11,83	11,93

Bei Prüfung der Chloroformlösung der wasserfreien Substanz wurden folgende Werthe erhalten:

	I.	II.
p	1,4739	2,9762
d	1,4735	1,46328
t	18,5°	19°
l	200 mm.	200 mm.
α	— 4,2°	— 8,3°
$[\alpha]_D$	—33,43°	—32,95°

Das Cholesterin aus Lupinenfett schmilzt bei 135,5° bis 136,5° (uncorrigirt).

Der Benzoësäureester des Lupinencholesterins krystallisirt wie die entsprechenden Verbindungen aus Bohnen-, Wicken- und Erbsencholesterin aus Aether in dünnen, rectangulären Blättchen, die bei 144—145° schmelzen.

Die Acetylverbindung krystallisirt in kleinen Nadeln und schmilzt bei 124,5—125,5°.

0,2069 gr. Subst. lieferten 0,6128 gr. CO_2 und 0,2096 gr. H_2O.

	Berechnet für $\frac{C_{26}H_{43}}{C_2H_3O} > O$:	Gefunden:
C	81,15	80,77
H	11,11	11,26

3. Feste Fettsäuren.

Die festen Fettsäuren gaben bei der fractionirten Fällung folgende Fällungen:

I.	Fällung.	Schmelzp.	63—64°,	Erstarrungsp.	—
II.	»	»	53°,	»	50°
III.	»	»	57°,	»	54°
IV.	»	»	58,5°,	»	54,5°
V.	»	»	59°,	»	55°
VI.	»	»	59°,	»	55°
VII.	»	»	58,5°,	»	54,5°
VIII.	»	»	56°,	»	52°

Der Schmelzpunkt der ersten Fällung wurde beim Umkrystallisiren bald constant und zwar bei 73°. Der Erstarrungspunkt lag bei 71,5°. Prüfung der Homogenität durch partielle Fällung war leider auch hier nicht ausführbar.

Diese Säure aus Lupinenfett hatte die Zusammensetzung der Arachinsäure.

0,1404 gr. Subst. lieferten 0,3968 gr. CO_2 und 0,1625 gr. H_2O.

	Berechnet für $C_{20}H_{40}O_2$:	Gefunden:
C	76,92	77,07
H	12,82	12,85

Da der Schmelzpunkt der zweiten Fällung beim Umkrystallisiren niedriger wurde, bestand sie offenbar aus einem Säuregemenge. Sie wurde daher nochmals fractionirt gefällt und gab folgende Fällungen:

I. Fällung.	Schmelzp. 57°,	Erstarrungsp.	55°
II. »	» 55°,	»	52°
III. »	» 60°,	»	55°

Aus der dritten Fällung wurde nach einigem Umkrystallisiren die bei 62° schmelzende Palmitinsäure erhalten, während Fraction I und II nach häufigem Umkrystallisiren ganz geringe Mengen über 70° schmelzender Säure lieferten.

Hiernach kann auch im Lupinenfett die Stearinsäure höchstens in sehr kleinen, durch die angewandte Methode nicht isolirbaren Mengen vorhanden sein.

Die Fractionen III—VII der ersten Fällungsreihe, die nahezu gleiche Schmelzpunkte hatten, wurden vereinigt und aus Alkohol umkrystallisirt. Bald blieb der Schmelzpunkt constant und zwar bei 62°. Die Elementaranalyse bestätigte das Vorhandensein von Palmitinsäure.

0,1353 gr. Subst. lieferten 0,372 gr. CO_2 und 0,1531 gr. H_2O.

	Berechnet für $C_{16}H_{32}O_2$:	Gefunden:
C	75,00	74,98
H	12,50	12,57

Niedriger als Palmitinsäure schmelzende feste Fettsäuren wurden auch im Lupinenfett nicht aufgefunden. Selbst die letzte bei 56° schmelzende Fraction schmolz schon nach einmaligem Umkrystallisiren bei 62° und änderte diesen Schmelzpunkt beim Wiederholen der Operation nicht, bestand also aus Palmitinsäure.

Die Quantität der Fettsäuren berechnet sich folgendermassen:

Angewandtes Fett (trocken)		930 gr.
Extract aus der Natronseife	ca.	100 gr.
Also Fette		830 gr.
Diesen (als Neutralfette betrachtet) entsprechen Fettsäuren		794 gr.
Bei der partiellen Fällung wurden feste Fettsäuren erhalten	ca.	90 gr.
Also waren flüssige Fettsäuren		704 gr.

Hiernach berechnet sich der Gehalt des Rohfettes:

an festen Fettsäuren auf	9,67 %
an flüssigen Fettsäuren auf	75,69 %

Ferner beträgt hiernach der Gehalt der Fettsäuren:

an festen Fettsäuren	11,33 %
an flüssigen Fettsäuren	88,67 %

Hauptbestandtheil der festen Fettsäuren ist wieder die Palmitinsäure, während die bei 73° schmelzende Säure quantitativ sehr zurücktritt.

Auch die Fettsäuren des Lupinenfettes kommen wahrscheinlich zum Theil als zusammengesetzte Aether mit Cholesterin verbunden vor.

Vorstehende Untersuchungen wurden auf Veranlassung des Herrn Professor Dr. Ritthausen im agriculturchemischen Laboratorium zu Königsberg i. Pr. ausgeführt.

Tabelle I.

		Bohnenfett.	Wickenfett.	Erbsenfett.	Lupinenfett.
Extractstoffe aus der Natronseife		11,29 %	6,47 %	8,0 %	10,5 %
Fettsäuren		85,80 %	—	87,90 %	85,37 %
Feste Fettsäuren		9,80 %	—	7,44 %	9,67 %
Oelsäure		76,00 %	—	80,46 %	75,69 %
Flüchtige Fettsäuren		Spuren	Spuren	Spuren	Spuren
Glycerin, Glycerinphosporsäure, Cholin etc.		2,91 %	—	4,10 %	4,13 %
Phosphor	Töpler	0,72 %	0,50 %	1,17 %	0,29 %
	Jacobson	2,46 % 0,74 %	0,80 %	1,93 %	1,92 %
Lecithin	Töpler	18,72 %	13,02 %	30,46 %	7,55 %

s.	Kö
än men.	Chol Wi
	1
.7°	

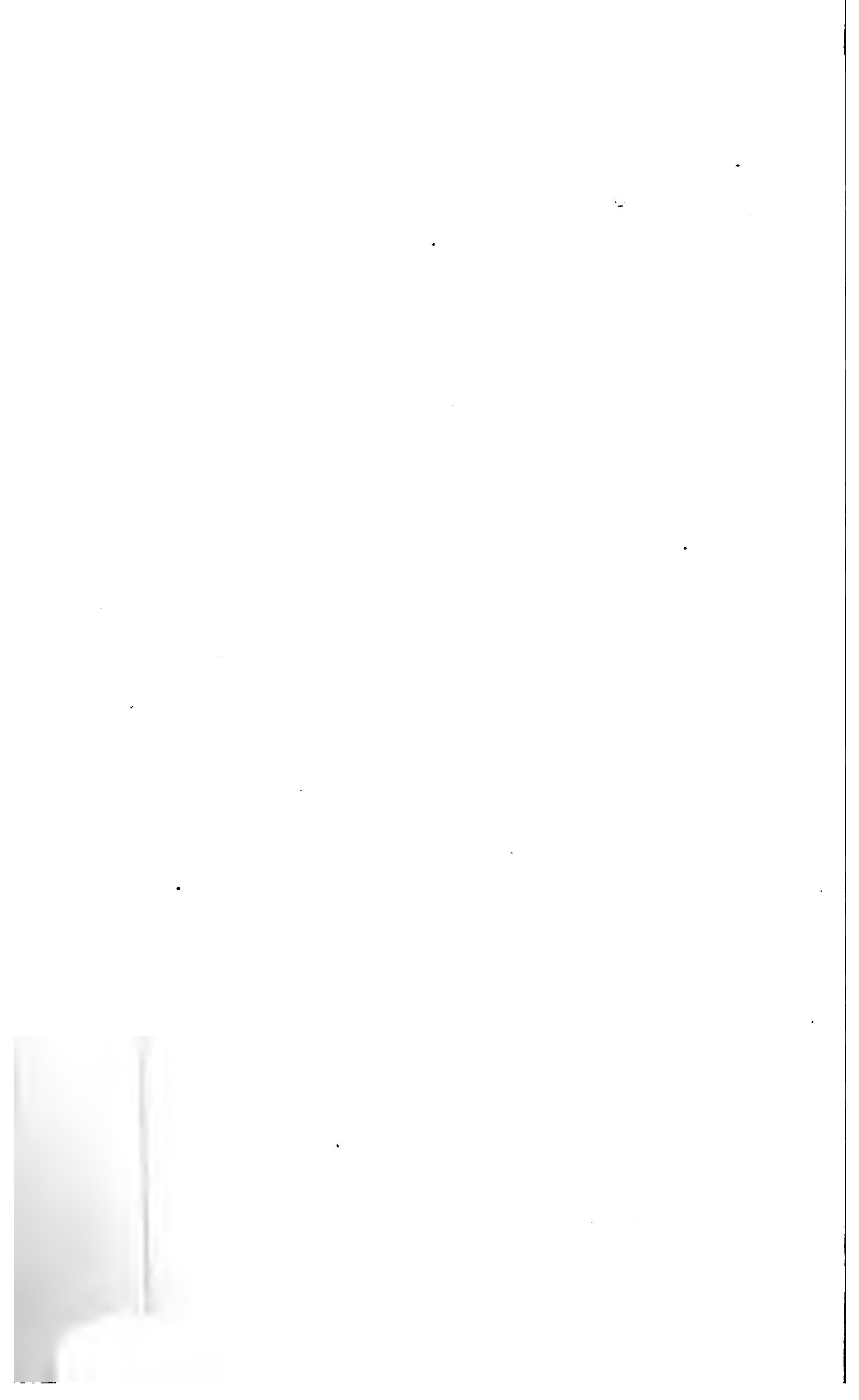


Tabelle II.

Säure.		Palmitinsäure.	Stearinsäure.	Arachinsäure.	Medullinsäure.	Behensäure.	Carnaubasäure.	Hyänasäure.	Cerotinsäure.	Melissinsäure.
Schmelzpunkt		62°	69,2°	75°	72,5°	73°	72,5°	77—78°	78°	90°
C		75,00	76,05	76,92	77,30	77,64	78,26	78,53	79,02	79,64
H		12,50	12,69	12,82	12,88	12,94	13,04	13,09	13,17	13,27
O		12,50	11,26	10,26	9,82	9,41	8,70	8,37	7,80	8,08
Gefunden:										
Feste Fettsäuren aus Bohnenfett.	Schmelzp.	62°	—	—	—	—	73,5°	—	—	—
	C	74,84	—	—	—	—	78,25	—	—	—
	H	12,65	—	—	—	—	13,24	—	—	—
	O	12,51	—	—	—	—	8,51	—	—	—
Feste Fettsäuren aus Erbsenfett.	Schmelzp.	62°	—	74—75°	—	—	—	—	—	—
	C	74,95	—	76,91	—	—	—	—	—	—
	H	12,60	—	12,59	—	—	—	—	—	—
	O	12,45	—	10,50	—	—	—	—	—	—
Feste Fettsäuren aus Lupinenfett.	Schmelzp.	62°	—	73°	—	—	—	—	—	—
	C	74,98	—	77,07	—	—	—	—	—	—
	H	12,57	—	12,85	—	—	—	—	—	—
	O	12,45	—	10,08	—	—	—	—	—	—

Ueber Huminsubstanzen, ihre Entstehung und ihre Eigenschaften.

Von

F. Hoppe-Seyler.

I. Ueber die Bildung von Huminsubstanzen in Pflanzen.

Bei der Zersetzung abgestorbener feuchter Pflanzentheile bilden sich bekanntlich amorphe Substanzen, die dem Humus seine braune Farbe geben und als Humus- oder Huminsubstanzen gewöhnlich bezeichnet werden. Lebende Pflanzen sind in allen ihren Organen frei von diesen Stoffen, aber die Bildung derselben erfolgt ganz allgemein in jedem Theile einer Pflanze, wenn der Tod eintritt, und der absterbende Theil Wasser enthält. Fasst man die Veränderungen, welche bei dem Absterben der Blätter und anderer saftreicher Theile von Pflanzen sich zeigen, näher in's Auge, so erkennt man bald, dass übereinstimmend bei Pflanzen der verschiedensten Organisation zwei Veränderungen stets Hand in Hand gehen, nämlich eine Färbung in helleres oder dunkleres Braun und das Eintrocknen an der Luft. Mag diesen Veränderungen, wie es so häufig der Fall ist, ein Verschwinden des Chlorophylls, eine gelbliche oder rothe herbstliche Färbung vorausgehen, erst mit dem Verschwinden des turgor vitalis treten gleichzeitig, meist mit scharfer Abgrenzung der nekrotischen Theile, die Braunfärbung und das Eintrocknen ein. Bleiben die Theile mit Wasser benetzt, so dass das Eintrocknen verhütet wird, dann werden sie beim Absterben weich, schlaff und, wenn das Gewebe nicht sehr holzig ist, zerfliessend, während zugleich die Braunfärbung in geringerem oder stärkerem Maasse eintritt. In gewissen Pflanzen ist diese Braunfärbung mehr gelblich, in andern röthlich, wieder bei andern

fast schwarz. Immergrüne Blätter nehmen beim Absterben gewöhnlich ein dunkleres Braun an, Zwiebelgewächse vielfach ein sehr helles röthliches oder blass gelbliches Braun. Ist aber auch die Färbung durchaus nicht bei allen übereinstimmend, so fehlt doch die Braunfärbung beim Tode nicht ganz, soweit die Prüfung dieses Verhaltens bei mehreren Tausenden von Exemplaren von Arten und Gattungen der verschiedensten Familien von den höchst organisirten hinab bis zu den Moosen, Flechten und Algen mir ergeben hat. Bei Sphagnum ist die Färbung nur sehr gering, bei Polytrichum ziemlich dunkel. Das Holz gefällter Bäume scheint insofern eine Ausnahme zu machen, als hier eine Farbenänderung nicht bald einzutreten braucht. Viele Hölzer halten sich lange Zeit recht weiss.

Im Innern von Baumstämmen, Aesten und Wurzeln bleibt gar nicht selten weisses, leichtes, sehr zerreibliches faules Holz zurück, frei oder fast frei von Huminsubstanzen. Wenn dagegen am lebenden Baume ein Ast oder Theil vom Stamm abstirbt, so färbt das todte Holz alsbald sich braun bis zur Grenze der Nekrose. Ebenso bräunt sich Holz, Schilf, Stroh, wenn es einige Zeit im Wasser verweilt und davon ganz durchdrungen ist. Die äussern Rindenschichten bräunen sich am lebenden Holz früher oder später, jedenfalls bei der Ausbildung von Kork, Rissen (Borkenbildung). Man hat wohl ein Recht, das Leben in der Rinde als erloschen anzusehen, soweit diese braune Farbe reicht.

Durch schnelles Erhitzen in siedendem Wasser, auch durch sehr starke Temperaturerniedrigung weit unter 0° ist man im Stande, lebende Pflanzen zu ertödten, ohne dass Braunfärbung eintritt. In einem Strome trockner Luft, besonders bei erhöhter Temperatur, können Pflanzen getrocknet werden, ohne dass Bräunung erfolgt. Bei warmem sonnigen Wetter und hinreichender Luftbewegung gemähtes und häufig umgewendetes Gras trocknet und wird hierbei bis auf die reifen Samen und Pilzsporen vollständig getödtet. Es bleibt das Heu grün und behält sein Aroma. Tritt dagegen nasses Wetter ein und ist der Sonnenschein schwach, so trocknet

das Heu nicht aus, verliert die schön grüne Farbe und den angenehmen Geruch, bekommt dabei eine mehr bräunliche Farbe, die sich um so mehr ausbildet, je länger die Feuchtigkeit einwirkt. Auch gemähtes oder überständiges Getreide nimmt bei anhaltend feuchter Luft bräunliche Farbe an; schnell getrocknetes Stroh ist sehr hell gefärbt. Diese Verhältnisse sind den Landleuten wohl bekannt. Die Ausbildung der Huminsubstanzen bei nicht genügend schnellem Austrocknen ist die Ursache der Verfärbung von Heu und Stroh. Mit dieser Zersetzung geht die Aenderung des Aroma Hand in Hand. Zerquetschte Aepfel und Birnen bräunen sich bald und verlieren zugleich ihren schönen Geruch und aromatischen Geschmack ganz oder theilweise, besonders wenn sie recht reif und nicht sehr sauer sind. Zerquetscht man das Obst unter genügendem Zusatz von Weinsäure, so tritt keine Bräunung ein und das Aroma bleibt erhalten. Man kann auf diesem Wege (mit nachheriger Entfernung der Weinsäure als saures Calciumtartrat) im Obstwein die angenehmen Aether der Obstsorten erhalten, welche bei der einfachen üblichen Obstweinbereitung grossentheils zerstört werden. Die Weintrauben bilden beim Keltern im Saft sehr wenig Huminsubstanz. Ebenso bleiben auch die Aetherarten der Traube besser erhalten als im Apfel- und Birnenwein. Wie es scheint, bleiben auch im Traubenwein die Aether um so besser erhalten, je saurer der Wein ist. Die Schalen der Weinbeeren liefern, wie bekannt, nicht wenig Huminsubstanz. Absterbende Pflanzentheile verfallen, wenn sie nicht zu sauer sind, ebenso wie die Leichen der Thiere, der zersetzenden Thätigkeit der fast allgegenwärtigen Spaltpilze. Man könnte nun glauben, es sei ihr Werk, dass jene Braunfärbung bei Pflanzen so allgemein sich einstellt. Wenn man aber sieht, wie ein durchschnittener Apfel in wenigen Minuten eine Braunfärbung der Schnittfläche zeigen kann, viele andere lebenden Pflanzentheile noch schneller diese Färbung erhalten, so ist der Schluss wohl gerechtfertigt, dass in diesen Fällen die Spaltpilze unschuldig sind.

Thierische Organismen erleiden beim Tode mit dem Aufhören des turgor vitalis dasselbe Einschrumpfen und Aus-

trocknen an trockner Luft wie die Pflanzen, aber eine Braunfärbung in der Weise wie die in abgestorbenen Pflanzen tritt nicht ein, ihnen müssen sonach die Stoffe fehlen, welche in den Pflanzen allgemein verbreitet sind und diese Farbenänderung hervorrufen, oder wenn die Thiere sie auch enthalten, können sie nur in geringer Menge in ihnen auftreten oder die Zersetzung bei dem Tode der Thiere nicht erleiden, welche in den Pflanzen die Braunfärbung bewirkt.

Obwohl dunkelgrüne Pflanzentheile gewöhnlich, vielleicht immer beim Absterben stark gebräunt werden, ist doch nachweisbar das Chlorophyll bei der Bildung der Huminsubstanz nicht selbst wesentlich betheiligt. Pflanzen, welche nur Spuren von Chlorophyll (z. B. Neottia nidus avis) oder gar kein Chlorophyll, wie Orobanche, Lathraea, Monotropa, enthalten, ebenso ganz oder fast chlorophyllfreie Wurzeln und Knollen, z. B. Kartoffeln, Rüben, ferner weisse Blüthenblätter (Rosen, Camellien u. s. w.) erfahren meist sehr starke Braunfärbung, werden z. Th. fast schwarz, wie Monotropa, Lathraea, Kartoffeln, wenn sie nass zerquetscht der Luft ausgesetzt werden[1]).

Die Substanzen, welche in diese braunen Farbstoffe verwandelt werden, müssen offenbar eine sehr allgemeine Verbreitung im Pflanzenreiche haben. Es liegt hier nahe, an Gerbsäuren und an Kohlehydrate zu denken; unter den Letzteren hat die Cellulose bei den Pflanzen die weiteste Verbreitung. Es giebt auch genug andere Körper, welche, wie die Blausäure, Phenole und Stickstoffverbindungen aromatischer Structur, durch moleculare Umlagerung oder durch Einwirkung von Sauerstoff unter Bildung solcher amorpher brauner sog. Huminsubstanzen verändert werden, aber über das Vorkommen derselben in Pflanzen ist nichts bekannt; sie können zum grossen Theil völlig hier ausgeschlossen werden.

Gerbsäuren finden sich im Pflanzenreiche sehr verbreitet. Sie bilden bei ihrer Zersetzung während des Abdampfens

---

1) Diese Schwarzfärbung entsteht nur an der Luft und scheint durch Reduction wieder zu verschwinden, wenn Fäulniss bei Abwesenheit von Sauerstoff einwirkt. Diese Reducirbarkeit zeigen andere Huminsubstanzen nicht.

ihrer wässrigen Lösungen, besonders nach Zusatz von etwas Schwefelsäure oder Salzsäure, rothe bis dunkelbraune amorphe Körper, die «Gerbstoffrothe» genannt sind. In den Rinden und Borken der Bäume sind sehr häufig, vielleicht stets, sehr ähnliche Stoffe enthalten, die sich weder in Wasser noch in Aether, wohl aber in Alkohol lösen und von Stähelin und Hofstetter als Phlobaphene unterschieden sind. Aus abgestorbenen Blättern kann man nicht selten noch geringe Mengen von Gerbsäure extrahiren, sehr häufig erhält man aus ihnen braune amorphe Körper von den Eigenschaften der Phlobaphene.

Sind nun auch unzweifelhaft Gerbsäuren durch ihre genannten Zersetzungsproducte an der Bildung der rothen und braunen Stoffe in Rinden und vielen abgestorbenen anderen Pflanzentheilen sehr wesentlich betheiligt, so ist es doch nicht möglich, die Bildung solcher Stoffe in allen abgestorbenen Pflanzen auf sie zurückzuführen, weil sie nicht selten in saftigen Blättern und Stengeln fehlen, welche bei dem Absterben diese Färbung sehr intensiv annehmen, z. B. in Stengeln und Blättern von Lathraea squamaria im Anfang der Blüthe, im Innern von Kartoffelknollen und andern Wurzeln. Die Versuche von Kutscher[1]) und von Rulf[2]) haben ergeben, dass in sehr verschiedenen Pflanzen, z. B. Vicia faba, Helianthus tuberosus, Cynoglossum officinale, sich bei dem Keimen Gerbsäuren einfinden, später in den entwickelten Organen der Pflanzen verschwinden, also bei dem natürlichen Tod der Pflanzen nicht mehr vorhanden sind.

II. Verhalten der Cellulose und des Holzgummi.

Kohlehydrate im Allgemeinen sind wohl von allen organischen Substanzen, vielleicht die Eiweissstoffe ausgenommen, diejenigen, welche die weiteste Verbreitung haben. Die Cellulose ist allen denjenigen Pflanzen eigen, die ich hier in Betracht

---

[1]) E. Kutscher, Die Verwendung der Gerbsäuren im Stoffwechsel der Pflanze. Diss. Regensburg 1883.

[2]) P. Rulf, Das Verhalten der Gerbsäuren bei der Keimung der Pflanze. Halle 1884.

ziehe, kein anderes Kohlehydrat theilt diese Verbreitung. Wir sind im Stande, Cellulose durch Kochen mit mässig verdünnten Säuren in Dextrine und Zucker und diese in braune Huminsubstanzen überzuführen, aber die Cellulose ist nicht die Substanz, welche in Kartoffeln, Lathraea u. s. w. die braunen Stoffe beim Absterben liefert, denn man erhält diese Bräunung nach dem Zerquetschen der Kartoffeln oder der Stengel und Blätter (Schuppen) von Lathraea in absolutem Alkohol, in einem nachher angefertigten kalten Wasserauszug der in Alkohol unlöslichen Stoffe. Der die Braunfärbung bedingende Körper ist sonach in Wasser löslich. Auch die Ligninsubstanzen können deshalb, weil sie ganz unlöslich sind, bei der Farbstoffbildung hier nicht direct betheiligt sein. Andererseits ist zu beachten, dass Holz beim längern Liegen in Wasser gebräunt wird und dann Huminsubstanz enthält. In diesem Falle kann wieder kein in Wasser löslicher Körper die Braunfärbung veranlasst haben, sondern nur ein unlöslicher Holzbestandtheil, entweder Cellulose oder Ligninsubstanz. Holzgummi ist zwar in den Hölzern sehr verbreitet, fehlt aber, wie bereits Thomsen[1]) es beschreibt, dem Coniferenholze fast ganz, und dies Holz bräunt sich gleichfalls stark beim längern Liegen im Wasser.

Ich habe bereits früher[2]) mich bestimmt überzeugt, dass bei der Methangährung der Cellulose unter Ausschluss von Sauerstoff braune Huminsubstanzen nicht entstehen. Es blieb nun zu prüfen, ob dies vielleicht der Fall ist, wenn Sauerstoff ungehindert Zutritt hat. Manche bekannte Erscheinung könnte in dieser Weise gedeutet werden. Das Vergilben alter Leinwand, Baumwollenzeuge, Papiere scheint z. B. hierfür zu sprechen. Die folgenden Versuche zeigen, dass die Cellulose auch bei reichlichem Sauerstoffzutritt durch Gährung nicht in Huminsubstanz umgewandelt wird.

Eine Portion von 14,2925 gr. lufttrocknem, in kleine Schnitzel zertheilten Filtrirpapier, enthaltend 13,3816 gr.

---

1) Journ. f. pract. Chemie, N. F., Bd. 19, S. 146.

2) Diese Zeitschr., Bd. X, S. 421.

trockne reine Cellulose, wurde mit 100 cbcm. Flussschlammwasser, enthaltend 0,039 gr. organische und 0,051 gr. anorganische Stoffe, und 500 cbcm. destillirten Wasser, in einem mit Papier lose bedeckten Cylinderglase stehen gelassen, täglich das Gefäss geöffnet, der Inhalt umgeschüttelt und von Zeit zu Zeit das verdunstete Wasser ersetzt.

Eine andere Portion von 13,006 gr. lufttrocknen Papierschnitzeln desselben Filtrirpapiers, enthaltend 12,1776 gr. reine trockne Cellulose, wurde mit der gleichen Quantität des Schlammwassers und 500 cbcm. destillirten Wasser in eine Flasche von 1,5 Liter Inhalt gebracht, dieselbe horizontal in den früher[1]) geschilderten Bewegungsapparat eingefügt und bei guter Lüftung und sehr warmer Sommertemperatur täglich $^1/_4$ bis 2 Stunden in rotirender Bewegung erhalten, dabei das verdunstete Wasser von Zeit zu Zeit ersetzt.

Nach 3 Monaten wurden beide Versuche abgebrochen. Die Cellulose hatte in beiden Versuchen keine entschiedene Abnahme erlitten; jedenfalls waren keine Stoffe von den Eigenschaften der Huminsubstanzen entstanden.

Es könnte nun hier der Einwand erhoben werden, dass vielleicht eine gewisse Art von Spaltpilzen, die zufällig nicht in dem benutzten Schlammwasser enthalten waren, die Bildung von Huminsubstanzen aus Cellulose veranlassen könnten. Dieser Einwand wird aber hinfällig, weil der benutzte Schlamm ebenso wie jeder andere Fluss- und Kloakenschlamm, Garten-, Wald-, Ackererde Huminsubstanzen nachweislich enthielt und nun doch wohl angenommen werden darf, dass die betreffenden Spaltpilze noch in dem Schlamm vorhanden sein würden, die im Stande wären, Cellulose unter Bildung von Huminsubstanzen zu zerlegen, wenn überhaupt solche Spaltpilze existirten.

Künstlich können aus Cellulose ausser durch Säuren auch durch Erhitzen mit Wasser allein auf 180—200°, ferner durch Schmelzen mit Aetzkali und Einwirkung von Sauerstoff

---

[1]) F. Hoppe-Seyler, Ueber die Einwirkung des Sauerstoffs auf Gährungen. Festschrift. Strassburg 1881.

Huminsubstanzen dargestellt werden. Diese Gewinnungsweisen geben zwar an sich keine Aufklärung über die Entstehung der Huminkörper in absterbenden Pflanzen, sind aber hier insofern in Betracht zu ziehen, als sie für die Beurtheilung der Betheiligung des Lignin und der Zersetzungsproducte der Huminstoffe wichtige Anhaltspunkte liefern.

In früheren Mittheilungen[1]) habe ich über Versuche berichtet, in welchen Cellulose mit Wasser in zugeschmolzenen Glasröhren erhitzt Brenzcatechin neben Ameisensäure und braunen Zersetzungsproducten geliefert haben. Ich habe diese Angaben jetzt insofern zu vervollständigen, dass sich bei dieser Behandlung neben Brenzcatechin stets auch etwas Protocatechusäure bildet, dass aber bei dem beschriebenen Verfahren nur dadurch die Bildung von Protocatechusäure und Brenzcatechin erfolgt, dass das Glas vom Wasser angegriffen und etwas Alkali frei gemacht wird.

Auch die besten böhmischen, schwer schmelzbaren und sehr kieselsäurereichen Glasröhren verlieren mit Wasser auf 200° erhitzt in wenigen Stunden recht wohl bestimmbare Alkaliquantitäten. In einem Versuche wurden in eine unten rund zugeschmolzene Glasröhre von sehr schwer schmelzbarem Kaliglas 8 cbcm. reines destillirtes Wasser gebracht, die Röhre dann oben zu einem engen Röhrchen ausgezogen, die Luft aus der Röhre mittelst der Quecksilberpumpe evacuirt, das Wasser zum Sieden erhitzt und nun zugeschmolzen. Dies gegen 30 ctm. lange, geschlossene Rohr wurde 6 Stunden lang auf 180—200° im Oelbade erhitzt, dann nach dem Erkalten geöffnet.

Die innere Oberfläche der Röhre war trübe durch einen weisslichen Ueberzug; im Wasser schwammen einige weisse kleine Flocken. Beim Oeffnen ergab sich das Vacuum im Rohr unverändert. Die Reaction des Wassers war sehr entschieden alkalisch. Das Wasser wurde in eine Platinschale entleert, das Rohr mehrmals mit reinem Wasser nachgespült,

---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. IV, S. 15, 1870, und Medicin.-chem. Untersuchungen, Berlin 1866—71, S. 587.

die Flüssigkeit zur Trockne verdunstet, der Rückstand mit Salzsäure und etwas Wasser erwärmt, abermals verdampft, der Rückstand auf 130° erhitzt, dann mit etwas rauchender Salzsäure erwärmt, Wasser hinzugefügt, filtrirt und der Rückstand ausgewaschen. Das Filtrat wurde dann in einer Platinschale verdampft, der Rückstand zum Glühen erhitzt, gewogen, dann in bekannter Weise mit Platinchlorid das Kalium darin bestimmt. Das Glasrohr wurde dann noch mit Salzsäure und Wasser ausgespült und das gelöste Calcium in gewöhnlicher Weise als Oxalat gefällt und als Oxyd bestimmt. Es wurden erhalten:

$$KCl + NaCl = 0{,}0203 \text{ gr.}$$
$$K_2PtCl_6 = 0{,}0634 \text{ »}$$
$$CaO = 0{,}0036 \text{ »}$$

Durch die oben bezeichnete geringe Wasserquantität sind also in 6 Stunden bei 180—200° aus dem besten schwer schmelzbaren Glase aufgelöst:

Kalium	0,01017 gr.
Natrium	0,00092 »
Calcium	0,00257 »

Es ist hieraus ersichtlich, dass unter solchen Verhältnissen bei der Prüfung des Verhaltens irgendwelcher neutraler Stoffe gegen Wasser in den angegebenen Temperaturen eine Einwirkung von Aetzkali nicht ganz zu vermeiden ist[1]).

In zwei Röhren von bestem schwer schmelzbaren Glase wurden reines, im Luftbad vorher bei 110° getrocknetes Filtrirpapier und reines destillirtes Wasser eingebracht, die Röhren oben ausgezogen, mit der Quecksilberpumpe evacuirt, das Wasser in den Röhren zum Sieden erhitzt und während des Siedens die Röhren zugeschmolzen. Die so beschickten Röhren wurden 6 Stunden im Oelbade auf 180—200° erhitzt und erhalten.

Nach dem Erkalten fand sich das Papier stark gebräunt, die wässrige Lösung gelb gefärbt, der Druck im Innern war

---

1) Alkalireiches Natronglas wird unter solchen Verhältnissen noch viel stärker zersetzt. Vergl. Zeitschr. d. deutsch. geolog. Gesellschaft, 1875, Bd. XXVII, 3, S. 516.

geringer als der Atmosphärendruck. Die entleerte Flüssigkeit reagirte sauer und das Lakmuspapier behielt auch nach dem Trocknen die rothe Färbung. Die Flüssigkeit wurde destillirt, bis mehr als die Hälfte übergegangen war. Das saure Destillat mit Barytwasser übersättigt färbte sich gelb (enthielt etwas Furfurol). Das dargestellte Bariumsalz verhielt sich nach der Form der Krystalle und der Einwirkung von Silbersalpeter wie ameisensaures Barium. Die beim Abdestilliren im Kolben zurückgebliebene Flüssigkeit wurde mit Aether ausgeschüttelt und beim Verdunsten des Aetherauszugs ein gelblicher Rückstand erhalten, welcher in seinen Reactionen mit Brenzcatechin übereinstimmte. Bei öfterer Wiederholung dieses Versuchs auch mit 12- bis 24stündigem Erhitzen auf 200° unter Anwendung des mit Salzsäure und Flusssäure gereinigten Filtrirpapiers aus der Fabrik von Schleicher und Schüll wurde stets das gleiche Resultat erhalten, zugleich wurde durch Behandlung des Aetherauszugs mit Natriumcarbonatlösung, Abtrennung dieser alkalischen Lösung, Uebersättigen derselben mit Essigsäure und abermaliges Schütteln der sauren Lösung mit Aether ein Auszug erhalten, der etwas Protocatechusäure enthielt.

War aus den Röhren vor dem Zuschmelzen die Luft nicht evacuirt, so zeigte sich beim Oeffnen der auf 200° erhitzten und dann erkalteten Röhren im Innern ein Ueberdruck gegen den äussern Atmosphärendruck.

Um nun die Einwirkung des Alkali aus der Glaswandung ganz auszuschliessen, habe ich reines aschefreies Filtrirpapier in unten geschlossene und gestielte, oben offene Platinröhren[1]) mit reinem Wasser eingebracht, dieselben dann in die Glasröhren eingesetzt, welche unten etwas Wasser enthielten, dann die Glasröhren oben ausgezogen, in beschriebener Weise evacuirt und zugeschmolzen, dann die senkrecht

---

[1]) Die verwendeten Platinröhren und die ganze Anordnung der Versuche sind beschrieben und abgebildet in Zeitschr. d. deutsch. geolog. Gesellschaft, 1875, a. a. O.

stehenden Röhren im Oelbade bei 200° 6 bis 12 Stunden lang erhalten.

Beim Oeffnen der erkalteten Röhren zeigte sich kein Gasdruck im Innern. In den Platinröhren befand sich eine breiige, schwärzliche Masse — das zersetzte Papier. Dasselbe wurde in einen Kolben ausgegossen, mit Wasser nachgespült. Die Lösung röthete Lakmus bleibend, enthielt keine flüchtige Säure, nach Lieben's Reaction eine Spur Aceton. Aus dem Rückstand im Kolben nach Abdestilliren eines Theils der Lösung wurde durch Ausschütteln mit Aether kein Brenzcatechin und keine Protocatechusäure erhalten. Von der geringen Menge Substanz, welche beim Verdunsten des Aethers übrig blieb, gab eine Probe mit einem Tropfen Eisenchlorid versetzt rothe Färbung, die auf Zusatz von ein wenig Ammoniumcarbonat schmutzig grünschwarz wurde und langsam einen dunkeln Niederschlag absetzte. Eine andere Probe gab mit Eisenvitriol eine grüne, nicht blaue Färbung. Weitere Proben gaben Bräunung mit Natronlauge, Rothfärbung mit Silbersalpeter in neutraler Lösung und baldiger Ausscheidung von reducirtem Silber schon bei gewöhnlicher Temperatur. Eine kleine Probe der Substanz auf einem Holzspan eingetrocknet, dann mit einem Tropfen starker Salzsäure dem Lichte ausgesetzt, gab keine charakteristische Färbung.

Es darf nach diesen Versuchen als erwiesen angesehen werden, dass die Bildung von Brenzcatechin und Protocatechusäure aus Cellulose unter Einwirkung von Wasser im zugeschmolzenen Rohr bei 200° nur dadurch erfolgt, dass dem Glase etwas Alkali entzogen wird und unter Mitwirkung desselben diese aromatischen Körper entstehen, während die beiden genannten Stoffe nicht gebildet werden, wenn das Wasser für sich allein bei dieser Temperatur in Platinröhren auf die Cellulose einwirkt.

Die braunen, in Alkohol wenig, in verdünnter Natronlösung grösstentheils leicht löslichen Substanzen, welche aus dem Papier sowohl in den Platinröhren, als auch in den Glasröhren unter den geschilderten Verhältnissen entstehen,

gehören nach ihren Reactionen den Huminsubstanzen zu, und da ist es nun, wie unten näher erläutert wird, in guter Uebereinstimmung mit den verwandten Substanzen, dass bei und über 200° durch Alkali Brenzcatechin und Protocatechusäure gebildet werden. Die Flüssigkeit besass nach längerem Erhitzen auf 200° stets saure Reaction. Es ist höchst wahrscheinlich, dass geringer Gehalt der Flüssigkeit an organischer Säure bei 200° auf die Cellulose eine ähnliche Wirkung wie verdünnte starke Mineralsäure langsam bei gewöhnlicher Temperatur, schnell bei 100° ausübt, nämlich Humin, Huminsäure und Furfurol bildet.

Durch Einwirkung von Aetzkali auf Cellulose entstehen direct keine Huminsubstanzen. Filtrirpapier kann in Kalilauge von 1,27 spec. Gew., selbst in kalt vollkommen gesättigter Lösung bei 15—25° mehrere Tage stehen, auch bei ungehindertem Luftzutritt, ohne dass eine Bräunung eintritt. Wäscht man darauf mit Wasser, dann mit verdünnter Essigsäure, zuletzt wieder mit reinem Wasser sorgfältig aus und trocknet, so findet man das Papier filziger, dicker als vor der Behandlung mit Aetzkali, vollkommen weiss, in Wasser nicht so leicht zerreisslich, leicht löslich in Kupferoxydammoniak.

Mit stärkster Aetzkalilösung in der Retorte im Oelbade erhitzt zeigt reines Papier unter 200° keine erkennbare Aenderung, steigert man dann die Temperatur höher auf 220°, 230°, 240°, so löst es sich unter Aufschäumung, ohne dass Braunfärbung eintritt, wenn die atm. Luft abgehalten bleibt.

Da es aus Gründen, die unten entwickelt werden sollen, von Wichtigkeit war, das Verhalten der Cellulose gegen Aetzkali in hoher Temperatur kennen zu lernen, wurden 50 gr. lufttrocknes, mit verdünnter Salzsäure, darauf mit sehr viel Wasser, viel Alkohol und Aether gereinigtes, ligninfreies Filtrirpapier (in Portionen von 10 gr. mit 50 gr. Aetzkali und 50 cbcm. Wasser) in tubulirter Retorte im Oelbade erhitzt. Dem Hals der geräumigen Retorte war angefügt ein Liebig-scher Kühler, an diesen eine tubulirte Vorlage. Der Tubulus

der Vorlage wurde mit einem Stopfen verschlossen, in dessen Bohrung ein doppelt gebogenes Glasrohr befestigt war. Das offene Ende dieses Glasrohrs wurde in ein mit Wasser gefülltes Glasgasometer eingeführt. Der Tubulus der Retorte war durch luftdicht eingeschliffene Glasstopfen geschlossen. Die Temperatur des Oelbades wurde durch ein Thermometer gemessen, dessen Kugel sich im Oel in ungefähr gleicher Höhe mit dem Boden der Retorte und demselben sehr nahe befand.

Die Erhitzung mit Aetzkali wurde in diesen Versuchen mit Cellulose ebenso wie in den später zu beschreibenden mit andern Substanzen nicht über 250° gesteigert. Unter diesen Verhältnissen wurde das Glas der Retorte vom geschmolzenen Aetzkali so schwach angegriffen, obwohl jeder Versuch 1 bis 3 Stunden in Anspruch nahm, dass dieselbe Retorte mehr als 50 mal für diese Procedur benutzt werden konnte; schliesslich wird sie allerdings so dünn, dass sie gelegentlich durchbricht. Bei dem allmäligen Erhitzen des Oelbades beginnt das Sieden bei 140—160°, durch den entwickelten Wasserdampf wird die atm. Luft aus der Retorte ausgetrieben; sie sammelt sich im Gasometer. Ihr Volumen wird, wenn kein weiteres Entweichen von Luft mehr stattfindet, abgelesen und dann das Gasometer wieder völlig mit Wasser gefüllt. Hierzu zieht man das Ende des Glasrohrs, welches das Gas zuleitet, aus dem Gasometer und steckt es unter Quecksilber. Beim Erhitzen bis über 200° entwickelt sich kein Gas mehr. Beginnt dann über 200° das feinblasige Aufschäumen, so wird das Gas im Gasometer aufgesammelt. Mit dem Aufhören der Gasentwickelung bei 240° ist der ganze Process zu Ende. Die Retorte wird lose verschlossen aus dem Oelbade erhoben, nach dem Erkalten die Schmelze mit Wasser übergossen und zugleich in kleinen Portionen verdünnte Schwefelsäure zugefügt, bis das ganze Kali mit dieser Säure gesättigt ist. Eine vorausgehende Titrirung gewogener Aetzkaliquantität mit einer Mischung von 1 Vol. reiner Schwefelsäure mit 5 Vol. Wasser orientirt über die Menge der zuzusetzenden verdünnten Säure. Von der erhaltenen sauren Lösung der Schmelze wurden un-

gefähr 60 % abdestillirt und nach dem Erkalten die rückständige Flüssigkeit in der Retorte 4 bis 6 mal mit ungefähr gleichem Vol. Aether ausgeschüttelt.

Aus der Aetherlösung wurden Oxalsäure und Protocatechusäure gewonnen, indem durch Schütteln derselben mit Sodalösung beide Säuren in die wässrige Lösung übergeführt, dann durch Zusatz von Essigsäure und Schütteln mit Aether die Protocatechusäure in diesen wieder aufgenommen, während die Oxalsäure von dem Natrium nicht abgetrennt, nach Abheben der Aetherlösung durch $CaCl_2$ gefällt wurde.

Aus 50 gr. lufttrocknen Papier wurden im Ganzen 0,6375 gr. noch nicht völlig reine Protocatechusäure neben 1,2185 gr. Oxalsäure aus dem Aetherauszug gewonnen. Auf Hydrochinon, Resorcin, Pyrogallol, Phloroglucin wurde das Aetherextract vergeblich untersucht, nur ein wenig Brenzcatechin wurde gefunden. Die Reinigung der Protocatechusäure, auf sehr verschiedene Art versucht, gelang noch am besten durch gereinigte Thierkohle, aber unter starkem Verlust. Die bekannten Reactionen: Blaugrünfärbung mit Eisenchlorid, Violettfärbung bei nachherigem Zusatz von Ammon oder Natriumcarbonat, Braunfärbung mit Natronlauge, sehr charakteristische bläuliche Purpurfärbung der Lösung der Calciumverbindung mit Lösung von Eisenvitriol, Spaltung der freien Säure beim Erhitzen über 200° in Brenzcatechin (welches in schönen farblosen Krystallen vom richtigen Schmelzpunkt erhalten wurde) und CO_2 und der Gehalt des bei 130° getrockneten Bariumsalzes (gefunden 30,21 % Ba, berechnet 30,92 %) lassen keinen Zweifel an der Identität der erhaltenen Säure mit Protocatechusäure bestehen. Der Schmelzpunkt der trocknen Säure wurde um mehrere Grade zu niedrig gefunden wegen kleiner Verunreinigungen, die aus der geringen disponiblen Quantität der Säure nicht völlig entfernt werden konnten.

Die saure wässrige Flüssigkeit, aus welcher durch Ausschütteln mit Aether Oxalsäure und Protocatechusäure gewonnen waren, enthielt nach dieser Behandlung noch etwas Oxalsäure, wurde aber im Uebrigen nicht weiter untersucht.

Das wässrige Destillat, welches aus der in Wasser gelösten, mit Schwefelsäure übersättigten Kalischmelze des Papiers enthalten war, mit $BaCO_3$ und etwas Barytwasser übersättigt, wurde nach Behandlung mit einem Strom CO_2 abgedampft, der Rückstand in Wasser gelöst, filtrirt, das Filtrat verdunstet und der krystallinische Rückstand bei 140° getrocknet. Das erhaltene Barytsalz betrug 13,9335 gr. Eine Portion davon, 2,534 gr., bei 143° getrocknet gab mit Schwefelsäure gefällt 2,3429 gr. $BaSO_4$. Die Salzmischung enthielt hiernach 54,38 % Ba.

Eine grössere Portion des Bariumsalzes wurde in Wasser gelöst, mit Schwefelsäure gefällt, filtrirt und das Filtrat destillirt. Aus dem Destillat wurde nach starker Verdünnung mit Wasser die Ameisensäure durch Silberoxyd zersetzt, das gelöste Silber mit SH_2 entfernt, die freien Säuren mit $CaCO_3$ neutralisirt, auf kleines Volumen concentrirt und mit Silbersalpeter fractionirt gefällt, die Niederschläge mit etwas Wasser gewaschen, ausgepresst, bei 105° getrocknet. Von der ersten Fällung gaben 0,5573 gr. Silbersalz 0,3446 gr. oder 61,83 % Ag, von der zweiten Fraction 0,8452 gr. Silbersalz 0,5235 gr. oder 62,28 % Ag. Essigsaures Silber enthält nach Berechnung 64,66 % und propionsaures Silber 59,65 % Silber.

Die Krystallformen der Barium- und der Silbersalze, die starke Reduction von Silberoxyd und die Gehalte an Barium und der Fractionen der Silbersalze an Silber lassen keinem Zweifel Raum, dass die flüchtigen Säuren, welche aus der Cellulose durch Schmelzen mit Aetzkali gebildet werden, hauptsächlich Essigsäure und Ameisensäure sind. Neben ihnen findet sich noch eine geringe Quantität einer oder mehrerer flüchtiger Säuren von höherem Moleculargewicht.

Das beim Schmelzen der Cellulose mit Aetzkali entwickelte Gas wurde in 3 Versuchen untersucht. Wie oben bereits gesagt, tritt die Gasentwickelung erst über 200° ein mit dem Beginn der Lösung des Papiers.

Im ersten Versuche wurden aus 10 gr. lufttrocknem reinem Papier mit 50 gr. Aetzkali und ebenso viel Wasser

erhitzt 3600 cbcm. Gas erhalten und hierin 3191 cbcm. H_2. Die Analyse des Gasgemisches hat die Werthe[1]) ergeben:

$H_2 = 86{,}77$ Vol.-%
$CH_4 = 0{,}94$ » »
$N_2 + O_2 = 12{,}29$ » »

Im zweiten Versuch wurden aus 5 gr. lufttrocknem Papier mit 25 gr. Aetzkali erhitzt bis 245° erhalten 1739 cbcm. H_2 von 760 m. Druck und 15° Temperatur. Die Zusammensetzung des Gases war[2]):

$H_2 = 60{,}80$ Vol.-%
$CH_4 = 0{,}94$ » »
$N_2 + O_2 = 38{,}25$ » »

Im dritten Versuche mit 10 gr. Papier wurde Gas erhalten von der Zusammensetzung[3]):

$H_2 = 86{,}66$ Vol.-%
$CH_4 = 0{,}23$ » »
$N_2 + O_2 = 13{,}11$ » »

Die in diesen Gasmischungen gefundenen Quantitäten $N_2 + O_2$ sind als die Reste von atm. Luft anzusehen, welche

---

1) Es wurden gefunden:

	Gasvolumen:	Temperatur:	Druck in Millim. Hg:	Gasvolumen 0° 1 m. Dr.:
Gasportion	70,90	11,2°	299,48	20,40
Nach O_2-Zuleiten . .	110,58	11,3°	437,61	46,45
Nach Explosion . .	69,17	11,3°	294,01	19,52
Nach Behandlung mit Natronlauge . . .	61,92	11,0°	324,80	19,33

2)

	Gasvolumen:	Temperatur:	Druck in Millim. Hg:	Gasvolumen 0° 1 m. Dr.:
Luft feucht	101,26	11,0°	399,91	38,93
Nach Gaszuleiten . .	123,26	11,0°	491,31	58,21
Nach O_2-Einleiten. .	136,90	11,6°	536,81	70,50
Nach Explosion . .	117,19	11,0°	466,41	52,54
Nach Behandlung mit Natronlauge . . .	111,17	11,4°	488,92	52,36

3)

	Gasvolumen:	Temperatur:	Druck in Millim. Hg:	Gasvolumen 0° 1 m. Dr.:
Gasportion	73,48	7,8°	293,89	20,99
Nach Zuleiten von O_2	110,31	7,8°	424,19	45,49
Nach Explosion . .	67,74	8,15°	276,70	18,20
Nach Behandlung mit Natronlauge . . .	63,21	8,15°	295,71	18,15

aus der Retorte, Kühlerrohr und Vorlage durch den Wasserdampf nicht ausgetrieben waren, als die Wasserstoffentwickelung begann. Die in den 3 Versuchen gefundenen Quantitäten Methan sind so gering, dass sie als zweifelhaft angesehen werden müssen. Nach den angeführten Bestimmungen geben 100 gr. Papier beim Schmelzen mit Aetzkali 32 bis 30 Liter (bei 0° und 760 Millim. Druck) oder 2,9 bis 2,7 gr. Wasserstoffgas. Wird die Cellulose bei dieser Behandlung entsprechend der Gleichung:

$$C_6H_{10}O_5 + 4KOH = 2(C_2H_3O_2K) + 2(CHO_2K) + H_2O + 2H_2$$

umgewandelt zu Acetat und Formiat, so werden 100 gr. Cellulose 2,47 gr. H_2 entwickeln müssen. Die Bildung flüchtiger Säuren von höherem Moleculargewicht wird die Wasserstoffentwickelung vermindern, die Umwandlung eines Theils der Ameisensäure zu Oxalsäure, welche nachgewiesen wurde, muss dagegen eine weitere Wasserstoffentwickelung, entsprechend der Gleichung:

$$2\,(CHO_2K) = C_2O_4K_2 + H_2$$

veranlassen. Dieser Vorgang findet bei weiterer Steigerung der Temperatur über 240° mehr und mehr statt, geht aber langsam vor sich.

In die Modalitäten der nachgewiesenen Bildung von Protocatechusäure bei dem Schmelzen von Papier mit Aetzkali ist ein Einblick noch nicht zu gewinnen. Sie tritt unter den beschriebenen Verhältnissen constant ein, bleibt aber doch gering und es erscheint deshalb ihre Bildung als eine nebensächliche. Es verhält sich hier mit der Protocatechusäure ebenso wie mit ihrer Entstehung neben Brenzcatechin bei der Einwirkung von Aetzalkalien in wässriger Lösung auf solche Zuckerarten, die bei mässiger Erwärmung bereits Kupferoxyd in alkalischer Lösung zu Oxydul reduciren, wie Dextrose, Levulose, Galactose.

Gährung von Holzgummi.

In einem bereits seit 2 Jahren fortgeführten, noch immer nicht beendeten Versuche, ebenso in einigen kürzeren Proben

ist die Gährung des nach Th. Thomsen's Vorschriften[1]) aus Buchenholz dargestellten Holzgummi untersucht, welche sich einstellt, wenn Flussschlamm in geschlossener Flasche auf diesen Körper in der erforderlichen Quantität von Wasser zertheilt bei gewöhnlicher Temperatur einwirkt. Die gährende Mischung befindet sich von Anfang an in einer über dem Kautschukstopfen mit Quecksilber gegen die Atmosphäre abgeschlossenen Flasche[2]). Die Gährung stellte sich alsbald ein. Kohlensäure und wenig Methan wurden entwickelt, aber nach ein paar Monaten hörte die Gasentwickelung ganz auf. Die ersten drei aufgenommenen Gasportionen enthielten in je 100 Vol.:

	I.	II.	III.
CO_2	42,884	64,70	53,87
CH_4	8,834	22,43	26,05
N_2	48,282	12,87	20,08

Da anzunehmen war, dass die Bildung freier Säure das Aufhören der Gährung veranlasst, die Spaltpilze aber nicht getödtet hätte, wurde 8,900 gr. $CaCO_3$ unmittelbar vorher auf 170° erhitzt, bei schnellem Oeffnen und wieder Schliessen der Flasche, Aufgiessen von Quecksilber eingebracht. Es entwickelte sich, wie eine angestellte Probe ergab, zunächst nur CO_2. Seit dieser Zeit ist die Gährung jetzt über 1 Jahr im Gange und noch nicht beendet. Sechs Gasportionen sind seitdem aufgefangen und analysirt. Die letzten Portionen haben folgende Zusammensetzung gezeigt:

	IV.	V.	VI.	VII.
CO_2	40,98	39,48	41,07	44,72
CH_4	55,50	60,52	58,93	55,28
N_2	3,52	—	—	—

Diese Gährung steigert und verlangsamt sich mit Erhebung und Erniedrigung der Temperatur, wie alle andern bis jetzt untersuchten Gährungen bei Abwesenheit von Sauerstoff. Sie schliesst sich in Hinsicht der gebildeten Producte

[1]) Journ. f. pract. Chem., N. F., Bd. 19, S. 146.

[2]) Vergl. die Anordnung derselben, diese Zeitschrift, Bd. XI, S. 561, 1887.

denen der Essigsäure und der Cellulose auf das Nächste an. Dunkelgefärbte Producte werden dabei aus dem weissen Holzgummi nicht gebildet. Den Verlauf dieser Gährung bei Luftzutritt habe ich noch nicht untersucht. Die gummireichen Hölzer, z. B. Buchenholz, färben sich beim Liegen im Boden oder im Wasser dunkler als die gummiarmen Coniferenhölzer, mögen sie lange der Erweichung widerstehen, wie das Eichenholz, oder, wie das Buchenholz, schnell faulen. Aus dem geringeren oder höheren Gehalt an Gerbstoffen und deren Phlobaphenen lässt sich diese dunklere Färbung nicht erklären. Das durch Aetzalkalilauge dem Holze entzogene Gummi ist in Wasser nicht ganz unlöslich, während man doch nicht im Stande ist, dem Holze direct durch Wasser Gummi zu entziehen. Man könnte diesen Unterschied als Beweis ansehen, dass die Extraction des Holzgummi mittelst Alkalilauge als ein Verseifungsprocess aufzufassen sei. Jedenfalls habe ich mich überzeugt, dass Holzgummi aus Eichenholz noch extrahirt werden kann, welches Jahrhunderte oder Jahrtausende im Wasser und zwar dem Sauerstoff nicht unzugänglich verweilt hat[1]).

Aus Fragmenten eines Pfahls aus Eichenholz, welcher Jahrhunderte lang im Wasser gestanden hatte, habe ich nach dem Verfahren von Th. Thomsen erhalten: Holzgummi 0,5770 gr. neben reiner Cellulose 2,8495 gr. und Ligninsäuren 1,0972 gr. Dies alte Holz enthielt also noch 12,76 % von der Substanz, welche als Holzgummi extrahirt wurde. Das Lignin ist anzusehen als Aether, wahrscheinlich der Cellulose und der Ligninsäuren. Diese Ligninsäure-Celluloseäther sind ausserordentlich haltbar, können aber nahezu quantitativ gespalten werden. Herr Dr. G. Lange ist mit der Untersuchung derselben beschäftigt. Nach den bis jetzt erhaltenen Resultaten ist es nicht zweifelhaft, dass die abgespaltenen Ligninsäuren zur Bildung von Huminsäuren im Humus, Torf und Braunkohle sehr wesentlich beitragen.

---

[1]) Vergl. diese Zeitschrift, Bd. 10, S. 403.

III. Ueber die Zusammensetzung und Eigenschaften der Huminstoffe.

A. Gerbstoffrothe und Phlobaphene.

Werden wässrige Pflanzenauszüge, welche Gerbsäuren enthalten, auf kleines Volumen oder zum Syrup eingeengt und dieser eingedickten Flüssigkeit viel Wasser zugesetzt, so trübt sich die Mischung und giebt einen röthlichbraunen Niederschlag. Nicht selten tritt derselbe schon beim Eindampfen der Flüssigkeit ein und dies geschieht wohl stets, wenn der wässrigen Lösung etwas Schwefelsäure oder Salzsäure zugesetzt war. Diese rothbraunen Niederschläge, die in Wasser unlöslich sind, in Alkohol theilweise oder ganz gelöst werden, ebenso in verdünnter Alkalilauge ganz oder grossentheils gelöst werden, haben den Namen «Gerbstoffrothe» erhalten.

Durch Extraction der Rinden von Bäumen, Sträuchern und ihren Wurzeln mit Alkohol werden braune gleichfalls in Wasser unlösliche, in Aetzalkali lösliche Substanzen erhalten, welche von den Gerbstoffrothen sich nicht scharf unterscheiden lassen. Diese amorphen Körper sind von Stähelin und Hofstetter[1]) «Phlobaphene» genannt. Gerbstoffrothe oder Phlobaphene sind in geringerer oder grösserer Quantität fast in allen officinellen oder sonst verwendeten Pflanzenextracten enthalten und bewirken Trübung oder flockigen rothen bis braunen Niederschlag bei ihrer Lösung in Wasser.

Nach einigen vorausgegangenen Arbeiten, unter denen die von Stähelin und Hofstetter und eine solche von Hlasiwetz[2]) besondere Beachtung verdienen, wurde das Roth der Rinde von Aesculus Hippocast. im Vergleich mit der Gerbsäure derselben von Rochleder[3]) einer eingehenden analytischen Untersuchung unterworfen. Nach 9 Analysen der bei 100—118° getrockneten Substanz hat diese Gerbsäure

---

1) Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 51, S. 63, 1844.

2) Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 79, S. 140.

3) Sitzungsber. d. Wien. Acad. d. Wiss., November 1866; Chem. Centralblatt, 1867, S. 513.

die Zusammensetzung im Mittel: C 59,06, H 4,64, O 36,30%. Der rothe Körper, welcher durch Einwirkung von Salzsäure bei Siedetemperatur aus den wässrigen Gerbsäurelösungen erhalten wurde, zeigte verschiedene Zusammensetzung. Es wurden Körper erhalten, welche folgende Gruppen bildeten nach den analytischen Werthen, zu denen ihre Untersuchung führte.

1. C 60,27—60,37 %
   H 4,60— 4,69 »
   O 35,13—34,94 »
2. C 60,51—60,65 %
   H 4,27— 4,74 »
   O 34,68—35,16 »
3. C 61,13—61,38 %
   H 4,44— 4,74 »
   O 33,88—34,40 »
4. C 62,15—62,40 %
   H 4,27— 4,63 »
   O 33,12—33,56 »
5. C 62,57—62,85 %
   H 4,17— 4,40 »
   O 33,26—32,75 »

Wenn hiernach die Zusammensetzung der Gerbsäure nach der Annahme von Rochleder ausgedrückt wird durch die Formel $C_{26}H_{24}O_{12}$, so sind die durch Erhitzen mit Salzsäure erhaltenen Körper:

1. $C_{52}H_{46}O_{23}$
2. $3(C_{26}H_{22}O_{11}) + C_{26}H_{24}O_{12}$
3. $C_{26}H_{22}O_{11}$
4. $C_{26}H_{22}O_{11} + C_{26}H_{20}O_{10}$
5. $C_{26}H_{22}O_{11} + 3(C_{26}H_{20}O_{10})$

Die der Formel $C_{26}H_{20}O_{10}$ entsprechenden Procentgehalte C 63,41, H 4,065 wurden bei keinem der dargestellten Stoffe gefunden. Mit Recht wurde aber das Trocknen der Substanzen bei höherer Temperatur als 118° vermieden.

Die Einwirkung der Salzsäure und somit die Entstehung dieser Gerbstoffrothe ist nicht auf eine Spaltung, sondern allein auf Wasserentziehung, wie schon Rochleder hervorhebt, zurückzuführen.

Seit dieser Zeit sind besonders von Hlasiwetz und seinen Schülern Pfaundler, Grabowski, Rembold und Malin diese Untersuchungen fortgesetzt und von denselben folgende procentische Zusammensetzungen gefunden, wobei jedoch zu beachten ist, dass das Trocknen der zur Analyse vorbereiteten Substanzen zum nicht geringen Theil bei zu

hoher Temperatur vorgenommen ist. Einige Analysen des Eichengerbstoffrothes und des Eichenphlobaphen, von Herrn Dr. G. Lange auf meinen Wunsch und zum Theil von mir ausgeführt, sind im folgenden Verzeichniss miteingereiht.

Gerbstoffderivat.	Trocken-temperatur.	Procentgehalt.		
		C	H	O
Eichenphlobaphen[1] . .	120°	55,30	4,40	40,30
» » . .	120°	55,40	4,30	40,30
Eichenroth[2]	105°	56,42	4,22	39,36
» »	105°	56,47	4,17	39,36
» »	105°	56,54	4,01	39,45
Eichenroth[1]	120°	57,20	4,20 (4,5)	38,60 (38,30)
Chinaroth[3]	130—135°	57,40	3,90	38,70
» »	130—135°	57,60	3,90	38,50
Eichenphlobaphen[2] . .	105°	58,47	4,61	36,92
» » . .	105°	58,87	4,85	36,28
» » . .	105°	58,99	4,84	36,17
Eichenroth[1]	120°	59,00	4,50 (4,20)	36,50 (36,80)
Chinaphlobaphen[4] . . .	?	59,10	4,30	36,60
Maclurin (Moringerbsäure)[5]	130—140°	59,36	4,13	36,51
» »	130—140°	59,25	4,18	36,57
Phlobaphen d. Rinde von Betula alba[4]	?	59,87	4,67	35,46
Phlobaphen d. Rinde von Pinus sylvestris[4] . .	?	59,98	4,44	35,58
Eichenphlobaphen[6] . .	108°	59,86	4,47	35,67
» » . .	108°	59,93	4,12	35,95
Eichenroth[6]	108°	59,79	4,40	35,81
» »	108°	60,08	3,94	35,98
» »	108°	60,19	4,22	35,59
Filixroth[7]	130°	60,30	3,80	35,90

[1]) Grabowski, Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 145, S. 1.
[2]) G. Lange u. F. Hoppe-Seyler, Analysen noch nicht publicirt.
[3]) Rembold, Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 143, S. 272.
[4]) Stähelin u. Hofstetter, Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 51, S. 63, 1844.
[5]) Hlasiwetz u. Pfaundler, Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 127, S. 356.
[6]) Böttinger, Liebig's Ann., Bd. 202, S. 276.
[7]) Malin, Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 143, S. 276.

Gerbstoffderivat.	Trockentemperatur.	Procentgehalt.		
		C	H	O
Tormentillgerbstoff[1] . .	125°	60,70	4,70	34,60
» » . .	125°	60,80	4,60	34,60
Ratanhiaroth[2]	130°	60,80	4,20	35,00
Tormentillroth[1]. . . .	125°	61,20	4,30	34,50
Chinovaroth[3]	100°	61,01	5,08	33,91
» »	100°	61,10	5,08	33,82
» »	100°	61,32	5,26	33,42
Lignoin[4]	100°	61,85	5,17	32,98
Ratanhiaroth[5]	?	62,18	4,66	33,16
Phlobaphen von Betula alba[6].	?	62,37	4,35	33,28
Eichenphlobaphen[6] . .	?	62,47	4,31	33,22
» » . .	?	63,13	4,27	33,60
» » . .	?	63,00	4,39	32,61

Die sämmtlichen in dieser Tabelle in Vergleich gestellten Gerbstoffderivate sind nicht krystallisirbar, nicht flüchtig, verlieren beim Trocknen über 120° neben Wasser Ameisensäure und CO_2. Sie gehen Verbindungen ein mit Metallen, die durch CO_2 nicht zerlegt werden, aber diese Verbindungen haben wenig charakteristische Eigenschaften. Durch ihr Verhalten gegen Essigsäureanhydrid erweisen diese Säuren, soweit sie darauf untersucht sind, dass sie Hydroxylgruppen enthalten, die in Essigäther umgewandelt werden können[7]. Dass die von Stähelin und Hofstetter eingeführte Unterscheidung der Phlobaphene von den Gerbstoffrothen keine sichere Abgrenzung zulässt, ist wohl von allen Chemikern, die sich mit den Gerbstoffen nach ihnen beschäftigt haben, anerkannt.

---

[1]) Rembold, ebendas., Bd. 145, S. 5.
[2]) Grabowski, ebendas., Bd. 143, S. 274.
[3]) Hlasiwetz, Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 79, S. 140.
[4]) O. Hesse, ebendas., Bd. 109, S. 341.
[5]) A. Raabe, Russische Zeitschr. f. Pharm., 1880, S. 577.
[6]) Stähelin u. Hofstetter, Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 51. S. 63, 1844.
[7]) Böttinger, a. a. O.

Auch die in verdünnten Aetzalkalilösungen nicht löslichen Gerbstoffrothe nehmen Alkali auf, halten es beim Auswaschen mit Wasser beharrlich fest und quellen dabei hoch auf. In Alkohol ist ein Theil der Gerbstoffrothe löslich, ein anderer nicht.

Den ersten Einblick in die chemische Structur dieser complicirten und leicht veränderlichen Verbindungen schien die Beobachtung von Rochleder, Hlasiwetz und seinen Schülern zu geben, dass beim Schmelzen mit dem 3- bis 5fachen Gewicht Aetzkali und etwas Wasser Protocatechusäure entweder allein oder neben Phloroglucin und andern Körpern erhalten wird.

Die Bildung von Phloroglucin bei dieser Behandlung ist bei manchen Gerbstoffrothen und Phlobaphenen, die diesen Körper zu liefern schienen, sehr zweifelhaft geworden. Grabowski giebt an, es aus Eichenroth erhalten zu haben, Böttinger konnte es nicht mit Sicherheit nachweisen; ich erhielt aus 50 gr. Eichenroth oder Phlobaphen beim Schmelzen mit Aetzkali kein Phloroglucin, aber ebenso wie Grabowski und Böttinger reichlich Protocatechusäure. Das übliche Schmelzen im Silbertiegel gestattet weder eine genaue Regulirung der Temperatur, noch quantitative Gewinnung der Producte, hierfür eignet sich allein das Schmelzen in der Glasretorte im Oelbade bei 240—250°, wie es oben bezüglich der Cellulose bereits beschrieben ist.

Aus 50 gr. Eichenrindephlobaphen wurden erhalten:

Protocatechusäure	4,8847 gr.
Brenzcatechin etc. (durch Na_2CO_3-Lösung der Aetherlösung nicht entzogen)	1,1942 »
Essigsaures Barium	4,8002 »

Dieses Acetat enthielt etwas Formiat, gab bei der Bestimmung des Bariumgehaltes 53,97 % Ba statt des berechneten Gehaltes 53,725 % Ba und reducirte Silbersalpeter beim Erhitzen alsbald. Oxalsäure wurde aus dem Aetherauszuge in grossen Krystallen erhalten, durch Na_2CO_3-Lösung der Aetherlösung entzogen, durch Zusatz von Essigsäure bis zur stark sauren Reaction und Ausschütteln mit Aether die Proto-

catechusäure ausgezogen, während das unzersetzte Natriumoxalat in der wässrigen Lösung blieb.

Neben den genannten Zersetzungsproducten wurde eine reichliche Quantität einer dunkelbraunen, in Wasser sehr wenig, in verdünnter Alkalilauge sehr leicht löslichen Säure erhalten, welche durch Salzsäure oder Schwefelsäure in voluminösen Flocken aus der alkalischen wässrigen Lösung gefällt wird und nach sorgfältigem Auswaschen mit Wasser in Alkohol, auch wenn er sehr wasserhaltig ist, leicht sich löst. Destillirt man den Alkohol auf dem Wasserbade ab, so bildet sich, wenn die Concentration bereits genügenden Grad erreicht hat, an der Oberfläche der Flüssigkeit eine Haut und beim Erkalten der Lösung erstarrt dieselbe zu einer weichen Gallerte. Beim weitern Eindampfen wird die Haut sehr runzelig, platzt hier und da und die Masse trocknet langsam zu einer spröden, glänzenden, gut pulverisirbaren, aber recht hygroscopischen schwarzbraunen amorphen Substanz. Dieselbe wird als feines Pulver mehrmals mit Wasser und, nachdem sie wieder getrocknet ist, mit mehreren grösseren Portionen Aether stehen gelassen, oft umgeschüttelt, dann abfiltrirt. Der Aether färbt sich dabei röthlich gelb und hinterlässt beim Verdampfen eine leicht schmelzbare, krystallinische, in Alkohol oder Aether leicht lösliche Säure.

Die durch Waschen mit Wasser, dann mit Aether gut gereinigte schwarzbraune Substanz bei 105 bis 110° getrocknet ergab bei der einen Darstellung die Zusammensetzung:

I. 0,1982 gr. Substanz gab 0,4744 gr. CO_2 und 0,0766 gr. H_2O.
II. 0,2186 » » » 0,5239 » » » 0,0850 » »

Von einer andern Darstellung ergaben:

III. 0,1593 gr. Substanz 0,3790 gr. CO_2 und 0,0578 gr. H_2O.
IV. 0,1758 » » 0,4167 » » » 0,0664 » »

Hieraus ergeben sich die Werthe:

	I.	II.	III.	IV.
C	65,30 %	65,41 %	64,88 %	64,64 %
H	4,29 »	4,32 »	4,08 »	4,19 »

Das zu dieser Aetzkalischmelze benutzte Phlobaphenpräparat aus Eichenrinde, welches die Werthe I und II ergeben

hat, zeigte bei 105° getrocknet vor dem Schmelzen die Zusammensetzung:

V.	0,2249 gr.	Substanz	gab	0,4864 gr.	CO_2	und	0,0980 gr.	H_2O.
VI.	0,2256	»	»	0,4834	»	»	0,0936	»
VII.	0,2329	»	»	0,5028	»	»	0,1018	»

	V.	VI.	VII.
C	58,99 %	58,47 %	58,87 %
H	4,84 »	4,61 »	4,85 »

Wird die beim Schmelzen mit Aetzkali erhaltene, durch Säure gefällte und in obiger Weise gereinigte amorphe braune Substanz nochmals mit Aetzkali geschmolzen, so erleidet sie eine Verminderung ihres Gewichts, es wird wieder Protocatechusäure, Ameisen-Essigsäure, Oxalsäure und die in Aether lösliche Säure gewonnen, aber der grösste Theil wird mit den unveränderten Eigenschaften wieder erhalten.

Nimmt man mit Rochleder und Grabowski an, dass in diesen Gerbstoff und Gerbstoffrothen Stoffe zu finden seien mit 26 Atomen Kohlenstoff im Molecul, so besitzt das Eichengerbstoffroth nach obigen Analysen V—VII die Zusammensetzung $C_{26}H_{24}O_{12}$ übereinstimmend mit dem Gerbstoff der Kastanienrinde, den Rochleder untersuchte, und dem Eichenroth von Grabowski. Die von Böttinger gefundenen Werthe zeigen 1 % höhern Kohlenstoff- und geringern Wasserstoff-Gehalt.

	Kastaniengerbsäure Rochleder:	Eichenroth Grabowski:	Obige Analyse V-VII im Mittel:	$C_{26}H_{24}O_{12}$ erfordert:
C	59,06 %	59,0 %	58,78 %	59,09 %
H	4,64 »	4,5 »	4,77 »	4,55 »

Die braune, durch Schmelzen des Eichenphlobaphen erhaltene amorphe Säure hat nach den obigen Analysen I und II Werthe ergeben, welche mit der empirischen Formel $C_{26}H_{20}C_9$ ziemlich gut zusammenstimmen:

	Gefunden:	Berechnet:		
	Mittel von I u. II	$C_{26}H_{20}O_9$	$C_{26}H_{20}O_{10}$	$C_{26}H_{18}O_9$
C	65,355 %	65,55 %	64,414 %	65,82 %
H	4,305 »	4,20 »	4,065 »	3,80 »

Diese braunen, amorphen, in Alkohol leicht löslichen, in Wasser quellenden aber darin nur wenig, in Aether gar nicht

löslichen Säuren, welche beim Schmelzen der Gerbstoffrothe und Phlobaphene, sowie der im Folgenden zu schildernden Huminsubstanzen mit Aetzkali neben Protocatechusäure etc. erhalten werden, will ich vorläufig, um öftere lange Auseinandersetzungen und Missverständnisse zu vermeiden, Hymatomelansäuren nennen. Es wird sich weiter unten zeigen, in wie weit diese Säuren durch ihre Eigenschaften zu einer solchen Zusammenordnung in eine Gruppe berechtigen.

B. Darstellung und Eigenschaften der Ulmin- und Huminsubstanzen.

1. Aus Kohlehydraten.

Wässrige Lösungen von Dextrose, Levulose, Milchzucker, Glycuronsäure färben sich braun beim Erhitzen und Abdampfen, wenn ihnen Säuren oder Aetzalkalien zugesetzt sind. Die Bräunung mit Aetzalkalien tritt nur ein, wenn Sauerstoff Zutritt hat, durch Säuren findet sie statt auch bei Abwesenheit von Sauerstoff, selbst nach Zusatz reducirender Stoffe, wie Zinnchlorür. Die von Mulder[1]) ausgesprochene Meinung, dass der Sauerstoff bei der Einwirkung der Säuren auf diese Zuckerarten eine weitere Umsetzung, die Ueberführung seiner Ulminkörper in Huminsubstanzen, veranlasse, habe ich nicht bestätigt gefunden, wohl aber in Uebereinstimmung mit Mulder gefunden, dass bei dem Erhitzen der Zuckerarten mit mehr oder weniger verdünnter Schwefelsäure oder Salzsäure stets mindestens zwei braune Körper entstehen, von denen der eine in verdünnter Alkalilauge löslich ist, der andere nicht. Die in Alkalilauge löslichen Stoffe sind ausgesprochene Säuren, deren Metallverbindungen durch CO_2 nicht zerlegt werden, die in Alkalilauge nicht löslichen Körper halten Alkali nach der Behandlung damit beim Auswaschen mit Wasser beharrlich fest und quellen damit zu einer schlüpfrigen Masse auf. Ob man die Säuren als Ulminsäure oder Huminsäure, die nicht gelösten braunen Körper als Ulmin oder Humin bezeichnen will, ist bedeutungslos. Mulder findet für das Ulmin

[1]) G. J. Mulder, Journ. f. pract. Chem., Bd. 21, S. 203 u. 321.

die Zusammensetzung $C_{40}H_{32}O_{14}$, für das Humin $C_{40}H_{30}O_{15}$, für die Ulminsäure $C_{40}H_{28}O_{12}$ und für die Huminsäure $C_{40}H_{24}O_{12}$ und sagt, dass durch Kochen mit starker Säure bei Luftzutritt Ulmin in Humin und Ulminsäure in Huminsäure übergeführt würden und bei dieser Umwandlung die Farbe der Verbindungen in ein dunkleres Braun übergehe.

Conrad und Gutzeit[1]) haben vor Kurzem eine Anzahl solcher Huminsubstanzen analysirt, welche sie bei dem Erhitzen von Rohrzucker mit 5- bis 10procentiger Schwefelsäure oder Salzsäure erhalten hatten. Sie fanden wechselnde Zusammensetzung, C 62,3 bis 66,5 %, H 3,7 bis 4,6 %. Eine Trennung der in Alkali löslichen Säuren von den Huminkörpern geben sie nicht an. Nach den obigen Formeln von Mulder würde das Ulmin C 68,57 und H 4,00 %, die Ulminsäure C 65,2 und H 4,35 %, das Humin C 68,96, H 3,45 % und die Huminsäure C 64,00 und H 4,00 % enthalten müssen. Diese Werthe stimmen mit Conrad und Gutzeit's Analysen nicht überein, aber Mulder hat das Trocknen der für seine Analysen vorbereiteten Stoffe bei zu hoher Temperatur vorgenommen, während Conrad und Gutzeit nur wenige Grade über 100° als Trockentemperatur verwendete. Bei Temperaturen über 118° verlieren diese Stoffe nicht allein Wasser, sondern auch CO_2 und Ameisensäure.

Nach einigen Vorversuchen habe ich theils auf dem Wasserbade, theils über freiem Feuer bis zum Sieden erhitzt Rohrzucker behandelt in Lösungen mit 5, andere mit 10 und in einer grössern Portion 1 Kilo Rohrzucker mit 4 Liter Salzsäure mit 22,5 % ClH. Diese letzte Portion wurde 24 Stunden mit Rückflussrohr auf dem Wasserbade erhitzt. Nach der Abkühlung wurde filtrirt, der Niederschlag mit viel Wasser gewaschen. Die braunen Filtrate wurden vereinigt bis auf $^1/_3$ Vol. abdestillirt, der hierbei gebildete Niederschlag gut ausgewaschen und mit obigem Niederschlage der Huminsubstanzen vereinigt. Aus der abfiltrirten Flüssigkeit nahm Aether beim

---

1) Conrad u. Gutzeit, Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. XIX, S. 2844.

Zusammenschütteln eine reichliche Quantität Lävulinsäure auf. Aus dem Destillate wurde durch nochmalige Destillation mit Bariumcarbonat Furfurol, und aus dem Rückstande nach Ausfällen des Barium mit Schwefelsäure und Destillation u. s. w. die freien fetten Säuren gewonnen.

Der Niederschlag der Huminsubstanzen mit verdünnter Natronlauge behandelt und mit Wasser anhaltend gewaschen gab einen schleimig gequollenen ungelösten Theil, der nach Behandlung mit salzsäurehaltigem Wasser und gutem Auswaschen mit Wasser getrocknet ein in Alkohol, sowie in Aether unlösliches, braunes, staubendes Pulver darstellte, welches auf Platinblech erhitzt mit lebhaftem Leuchten ohne sich zu blähen oder zu schmelzen verglimmte.

Die bei obiger Darstellung von dem nicht gelösten Humin abfiltrirte braune Lösung in verdünnter Natronlauge wurde mit Salzsäure übersättigt, der Niederschlag gut mit Wasser gewaschen, dann in Alkohol gebracht. Er schien sich zunächst im Alkohol zu lösen, schied aber bald harzige Tropfen oder weiche Massen aus, welche die Filterporen bald vollständig verstopften. Es wurde deshalb auf die Filtration verzichtet und die Mischung auf dem Wasserbade eingedampft, der Rückstand getrocknet, pulverisirt, noch mehrmals mit Wasser ausgewaschen, dann mit Aetherportionen stehen gelassen, filtrirt und gewaschen. Diese soweit gereinigte Substanz löste sich in verdünnter Natronlauge nicht wieder vollkommen auf, sondern liess ein Humin in nicht geringer Quantität ungelöst zurück. Es ist nicht ersichtlich, ob dies Humin beim Abdampfen der Lösung der Huminsäure erst gebildet, oder bereits früher vorhanden war, aber in der Alkalilösung fein suspendirt das Filter durchwandert hatte. Aus 1 Kilo Rohrzucker wurden nach dem beschriebenen Verfahren erhalten:

Humin . . . . 170,0 gr.
Huminsäure . . . . . . 63,325 gr.

Beide waren lufttrocken, sonach ohne Zweifel noch ziemlich wasserhaltig. Die Analysen ergaben die folgende Zusammensetzung der bei 105° getrockneten Substanzen:

1. Humin.

VIII.	0,1314 gr.	Substanz gab	0,3072 gr.	CO_2 und	0,0546 gr.	H_2O.
IX.	0,1300 »	» »	0,3053 »	» »	0,0542 »	»

2. Huminsäure.

X.	0,1469 gr.	Substanz gab	0,3462 gr.	CO_2 und	0,0616 gr.	H_2O.
XI.	0,1570 »	» »	0,3715 »	» »	0,0680 »	»

Diese Werthe ergeben die Zusammensetzung:

		VIII.	IX.	Mittel:
für Humin:	C	63,75 %	64,01 %	C 63.88 %
	H	4,64 »	4,63 »	H 4,64 »
		X.	XI.	Mittel:
für Huminsäure:	C	64,26 %	64,52 %	C 64,39 %
	H	4,68 »	4,77 »	H 4,73 »

Von diesem Humin wurden 60 gr. mit 300 gr. Aetzkali und ungefähr dem gleichen Gewicht Wasser in der Retorte im Oelbade erhitzt und nach Abdestilliren des Wassers allmälig bis 245° gesteigert. Die ganze Behandlung war die gleiche, wie sie oben bereits bezüglich der Cellulose und des Eichenphlobaphen beschrieben ist. 24,7 gr. des Humin wurden ungelöst wieder erhalten, daneben 23,855 gr. einer selbst in sehr verdünntem Alkohol leicht löslichen Hymatomelansäure, 0,801 gr. braun gefärbter Protocatechusäure, 0,1173 gr. Brenzcatechin und 3,4655 gr. Bariumsalz fetter Säuren. Die fetten Säuren waren bei Weitem nicht vollständig abdestillirt. Ausserdem fand sich im Aetherextract eine nicht bestimmte Quantität Oxalsäure.

In einem andern Versuche mit Humin aus Rohrzucker, durch Einwirkung von 10procentiger Salzsäure auf siedendem Wasserbade gewonnen, wurden durch Schmelzen mit Aetzkali in der beschriebenen Weise erhalten aus 29,490 gr. Humin (von dem 7,925 gr. unverändert wieder gewonnen sind) 0,2402 gr. Protocatechusäure neben 0,0494 gr. Brenzcatechin und 2,2774 gr. Bariumsalz fetter flüchtiger Säure. Dies Bariumsalz gab mit Silbersalpeter reducirtes Silber; 0,5104 gr. des bei 140° getrockneten Bariumsalzes gab 0,4720 gr. $BaSO_4$, enthielt sonach 54,38 % Barium, entsprechend einer Mischung von Acetat mit wenig Formiat. Die aus dem Aetherextract schön auskrystallisirte Oxalsäure wurde nicht bestimmt.

Die aus dem Rohrzucker nach dem angegebenen Verfahren dargestellte Huminsäure wurde gleichfalls mit dem fünffachen Gewicht Aetzkali in der oben geschilderten Weise geschmolzen, bis bei 240—245° kein Gas mehr entwich. Nach dem Erkalten in Wasser unter Ansäuern mit Schwefelsäure gelöst wurde ein brauner Niederschlag erhalten, welcher nur theilweise in verdünnter Natronlauge sich löste. Die zurückbleibende Huminsubstanz zeigte vom Humin keine Verschiedenheit. Aus der alkalischen Lösung wurde dann Hymatomelansäure erhalten, die sich leicht in Alkohol löste und in allen Reactionen mit der aus Humin gewonnenen Hymatomelansäure übereinstimmte. Durch Behandlung mit zahlreichen Portionen Aether wurde die fein pulverisirte Säure ebenso wie die Hymatomelansäure des Eichenphlobaphens und des Rohrzuckerhumin von einer krystallisirbaren, in Aether leicht löslichen Säure befreit, welche sehr wenig gefärbt oder im reinen Zustand farblos sein wird, aber noch nicht näher untersucht ist. Die Zusammensetzung der Hymatomelansäure wurde durch folgende 3 Analysen untersucht:

XII. 0,1620 gr. bei 105° getrocknete Substanz gab 0,3891 gr. CO_2 und 0,0684 gr. H_2O.

XIII. 0,1510 gr. bei 105° trockne Substanz gab 0,3635 gr. CO_2 und 0,0640 gr. H_2O.

Aus Huminsäure:

XIV. 0,2143 gr. bei 105° trockne Substanz lieferte 0,5138 gr. CO_2 und 0,0815 gr. H_2O.

	Aus Humin:		Aus Huminsäure:
	XII.	XIII.	XIV.
C	65,45%	65,65%	65,37%
H	4,69 »	4,70 »	4,22 »

Neben den erwähnten Säuren wurden auf 50 gr. lufttrockner Huminsäure (aus Rohrzucker) erhalten 0,3948 gr. noch ziemlich unreine Protocatechusäure und 0,8106 gr. bei 140° trockner essigsaurer Baryt, zugleich eine nicht näher bestimmte Quantität Oxalsäure.

Aus Glycuronsäure war von Herrn Dr. Thierfelder durch mässig verdünnte Salzsäure auf dem Wasserbade, z. Th. auch auf freiem Feuer Huminsubstanz erhalten,

die ungefähr zur Hälfte in sehr verdünnter Kalilauge gelöst wurde, während der nicht gelöste Rest nur aufquoll und reichlich Kalium zurückhielt, auch bei sehr anhaltendem Waschen mit Wasser.

Die gelöste Huminsäure wurde durch starkes Ansäuern mit Salzsäure gefällt, gut mit Wasser ausgewaschen, dann in Alkohol gelöst, filtrirt. Die Alkohollösung wurde verdunstet, der Rückstand fein pulverisirt und erst mit Wasser, dann nach dem Trocknen mit Aether oftmals ausgezogen.

Das Humin wurde gleichfalls mit Salzsäure, Wasser, Alkohol und Aether ausgelaugt, dann getrocknet.

1,2237 gr. lufttrockne Huminsäure aus Glycuronsäure erhalten verlor im trocknen Luftstrome im Wasserbad bei 100° 0,0785 gr. Wasser. Beim weitern Trocknen über 115° hinaus zeigte sich kein weiterer Gewichtsverlust, dagegen wurde beim Erhitzen bis 125° im trocknen Luftstrome neben Wasser auch CO_2 ausgetrieben. 1,1452 gr. bei 105° trockne Huminsäure verlor bis 125° erhitzt 0,0068 gr. und Barytwasser wurde durch die fortgeführte CO_2 getrübt. Bei den Analysen wurden folgende Werthe erhalten:

XV. 0,2306 gr. bei 112° trockne Huminsäure gab 0,5160 gr. CO_2 und 0,0911 gr. H_2O.

XVI. 0,2591 gr. bei 116° trockne Huminsäure gab 0,5748 gr. CO_2 und 0,0936 gr. H_2O.

XVII. 0,2670 gr. bei 118° trockne Huminsäure gab 0,5913 gr. CO_2 und 0,0955 gr. H_2O.

XVIII. 0,1381 gr. bei 110° trocknes Humin gab 0,3071 gr. CO_2 und 0,0510 gr. H_2O.

	Humin:	Huminsäure:			
	XVIII.	XV.	XVI.	XVII.	Mittel:
C	60,64 %	61,03 %	60,50 %	60,40 %	60,64 %
H	4,10 »	4,39 »	4,01 »	3,98 »	4,13 »

Es wurden 6,5859 gr. lufttrockne Huminsäure aus Glycuronsäure mit der 10fachen Menge Aetzkali geschmolzen bis 240° erhitzt im Oelbade. Nach der früher beschriebenen Behandlung der erkalteten Schmelze wurden erhalten Ameisensäure, Essigsäure, Oxalsäure und 0,036 gr. mit Thierkohle gereinigte Protocatechusäure.

Nach dem Ausschütteln mit wässriger Sodalösung gab die Aetherlösung beim Verdunsten einen in kaltem Wasser schwer, in Alkohol viel leichter löslichen Rückstand in feinen goldgelben Nadeln. Die wässrige Lösung derselben wurde durch Natronlauge gebräunt, gab mit Silbersalpeter schnell reducirtes Silber, mit Eisenchlorid blaugrüne Färbung, die mit 1 Tropfen Natriumcarbonatlösung purpurroth wurde, mit Eisenvitriol blaugrüne Färbung. Die goldgelben Nadeln wurden aus Alkohol umkrystallisirt, eine Probe davon im trocknen Probirrohr erhitzt schmolz und es sublimirten goldgelbe Nadeln, die mit schwefeliger Säure kein Chinhydron gaben. Auch der Schmelzpunkt war viel höher als der des Chinon. Die Quantität der Krystalle reichte zu weiteren Untersuchungen nicht hin.

Die erhaltene Hymatomelansäure (lufttrocken 5,5 gr.) wurde nochmals mit dem 5fachen Gewicht Aetzkali und etwas Wasser geschmolzen. Ueber 220° entwickelte sich fast kein Gas. Aus der angesäuerten Lösung der Schmelze wurde eine geringe Quantität von Essigsäure und Ameisensäure erhalten und durch Ausschütteln mit Aether ein Gemisch von mehreren Stoffen, unter denen sich etwas Protocatechusäure fand neben einer Säure, deren wässrige Lösung mit Eisenchlorid eine violette Färbung annahm, mit Eisenvitriol sich blau färbte. Nach Entfernung dieser Säuren aus der Aetherlösung durch Ausschütteln mit Natriumcarbonatlösung wurde beim Verdunsten des Aethers eine Substanz in geringer Menge gefunden, welche in Wasser gelöst mit Eisenchlorid purpurrothe Färbung gab, die durch Natriumcarbonat in ein schmutziges Braun umgewandelt wurde.

Auch das Humin der Glycuronsäure wurde mit der 5fachen Quantität Aetzkali geschmolzen und die Schmelze in der beschriebenen Weise behandelt. Aus 13,444 gr. lufttrocknem Humin sind erhalten noch ungereinigte Protocatechusäure 0,3860 gr., aus welcher nach einmaliger Reinigung ein Barytsalz gewonnen wurde, von dem 0,3984 gr. bei 120° getrocknetes Salz 0,2064 gr. $BaSO_4$ entsprechend einem Gehalte von 30,47 % Ba gab (berechnet 30,92 % Ba). Aus dem Destil-

late wurde ein Bariumsalz dargestellt, 0,5342 gr. im Gewicht, welches fast ganz aus Bariumacetat bestand. Oxalsäure fand sich im Aetherextract. Aus der Aetherlösung wurde nach Abtrennung der Protocatechusäure und der Oxalsäure mittelst wässriger Natriumcarbonatlösung, beim Abdestilliren des Aethers und Verdunstung des Rückstandes derselbe Körper in gelblichen Krystallnadeln erhalten, der auch aus der Schmelze der Huminsäure der Glycuronsäure, wie oben geschildert, gewonnen war. Die Krystalle wurden mit etwas Wasser gereinigt. Die wässrige abfiltrirte Flüssigkeit enthielt etwas Brenzcatechin.

Die aus der Huminsäure uud dem Humin der Glycuronsäure gewonnenen Hymatomelansäuren gaben folgende analytische Werthe:

1. Aus Humin gewonnen:

XIX. 0,1865 gr. Substanz bei 105° trocken giebt 0,4437 gr. CO_2 und 0,0733 gr. H_2O.

2. Aus Huminsäure gewonnen:

XX. 0,1672 gr. Substanz bei 105° trocken giebt 0,3600 gr. CO_2 und 0,0563 gr. H_2O.

XXI. 0,1494 gr. Substanz bei 105° trocken giebt 0,3225 gr. CO_2 und 0,0476 gr. H_2O.

	Aus Humin:	Aus Huminsäure:	
	XIX.	XX.	XXI.
C	64,87 %	58,76 %	58.83 %
H	4,34 »	3,73 »	3,54 »

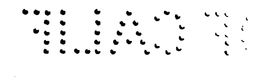
2. Darstellung und Eigenschaften der Huminsubstanzen aus Phenolen.

Zahlreiche Benzolderivate haben bekanntlich die Eigenschaft, an der Luft sich allmälig zu bräunen und sich in amorphe braune, in Aetzkalilauge lösliche Körper zu verwandeln. Die meisten, die sich so verhalten, sind Hydroxylverbindungen, andere werden alsbald verändert zu Huminstoffen, wenn sie einer Oxydation verfallen und dabei zunächst wohl auch in Hydroxylverbindungen verwandelt werden. Ueber die Eigenschaften und Zusammensetzung dieser stets unter Sauerstoffaufnahme gebildeten amorphen Körper ist nichts

Näheres bekannt, obwohl die Bildung derselben sehr vielfach beobachtet ist. Ich habe zunächst nur die Körper untersucht, welche aus Pyrogallol und aus Protocatechusäure bei Gegenwart von Ammoniak und atm. Luft sich bilden.

20 gr. Protocatechusäure mit Aetzammoniak stark alkalisch gemacht in wässriger Lösung stand im lose mit Papier bedecktem Glasgefäss unter häufigem Umschütteln vom 11. Juni 1887 bis 2. Januar 1888, also fast 7 Monate, an der Luft. Die Flüssigkeit wurde dann mit ClH übersättigt und filtrirt. Die abfiltrirte braunrothe Flüssigkeit enthielt 5,6902 gr. unveränderte, bei 100° getrocknete Protocatechusäure und 6,292 gr. eines krystallinischen, in Wasser schwer löslichen farblosen Umwandlungsproductes, das vorläufig nicht weiter untersucht wurde. Der auf dem Filter gesammelte braune Niederschlag, welcher durch Uebersättigen mit ClH gebildet war, wurde mit Wasser gewaschen, dann mit etwas Natronlauge und Wasser wieder gelöst, mit ClH abermals gefällt und sorgfältig mit Wasser gewaschen, bis die saure Reaction verschwunden war. Dieser Niederschlag sollte in schwachem Alkohol gelöst werden, da er sich aber in demselben nur theilweise löste, so wurde er mit einigen Tropfen Natronlauge und Wasser zur Lösung gebracht, filtrirt, das Filtrat auf dem Wasserbade zur Trockne verdunstet und der 4,009 gr. betragende Rückstand mit 20 gr. Aetzkali und ein wenig Wasser bis 240° in der Retorte im Oelbade geschmolzen und die Schmelze in der oben mehrfach beschriebenen Weise behandelt. Die während des Schmelzens mit Aetzkali in die Vorlage übergegangene stark alkalische Flüssigkeit wurde nochmals destillirt und die im Destillate enthaltenen Basen mit Platinchlorid gefällt. 0,4538 gr. des trocknen Platindoppelsalzes gab 0,195 gr. Pt oder 43,10 %. Dies Doppelsalz bestand sonach fast ganz aus $(NH_4)_2PtCl_6$.

Die aus der Kalischmelze durch Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure abgeschiedene Hymatomelansäure wurde nach Waschen mit Wasser in sehr verdünnter Natronlauge wieder gelöst, mit ClH darauf abgeschieden, sorgfältig mit Wasser ausgewaschen, dann in verdünntem Alkohol gelöst (sie löste



sich leicht), der Alkohol abdestillirt, der Rückstand auf dem Wasserbade getrocknet, gepulvert, zuerst noch mit Wasser, darauf mit Aether gut gewaschen und dann getrocknet. Die erhaltene Säure wog nur 0,6752 gr. Durch die Unvollständigkeit der Ausfällungen und geringe Löslichkeit in Wasser war durch die angegebene Behandlung sehr viel Substanz verloren gegangen. Für die bei 105° getrocknete Substanz wurden folgende analytische Werthe erhalten:

XXIII. 0,1076 gr. Substanz gab 0,2258 gr. CO_2. Die Wasserbestimmung ging verloren.

XXIV. 0,1434 gr. Substanz gab 0,2992 gr. CO_2 und 0,0408 gr. H_2O.

XXV. 0,1445 » » » 0,3042 » » » 0,0413 » »

Hieraus ergeben sich die procentischen Werthe:

	XXIII.	XXIV.	XXV.	Mittel:
C	57,24 %	57,41 %	56,97 %	57,20 %
H	— »	3,15 »	3,17 »	3,16 »

Bei der Behandlung der sauren wässrigen Lösung der Kalischmelze (nach Abscheidung der Hymatomelansäure) durch Ausschütteln mit Aether ging in denselben ausser einer in Wasser unlöslichen harzigen braunen Substanz relativ viel regenerirte Protocatechusäure in Lösung über, deren Identität durch die vortrefflich gelingenden Reactionen, die Krystallisation und die Spaltung in der Hitze in CO_2 und Brenzcatechin festgestellt wurde. Im sauren wässrigen Destillate wurde durch Barytwasser etwas flüchtige Säure gebunden, die nach Krystallisation, Verhalten gegen $AgNO_3$ u. s. w. Essigsäure und Ameisensäure war. Die Quantität war gering.

In einem Versuche wurde auch 3,546 gr. lufttrockner, entsprechend 3,175 gr. bei 110° trockner, Protocatechusäure mit 2,9530 gr. $CaCO_3$ in 150 cbcm. Wasser gebracht und in Erlenmeyer'scher Flasche lose bedeckt unter öfterem Umschütteln 5 Monate stehen gelassen. Die Flüssigkeit und der Niederschlag der überschüssigen Kreide färbten sich bald braun. Als dann der braune kalkreiche Niederschlag abfiltrirt war, wurde aus dem angesäuerten Filtrat 2,4224 gr. Protocatechusäure, bei 110° trocken, durch Ausschütteln mit Aether unverändert wieder gewonnen. 0,7 gr. Protocatechusäure

wurde vermisst und 0,1 gr. Huminsäure wurde gefunden. Beim Schmelzen dieser geringen Huminsäurequantität mit Aetzkali wurde Protocatechusäure nicht nachweisbar erhalten. Der in üblicher Weise erhaltene Aetherauszug nach Ansäuern enthielt eine Substanz, die sich mit Natronlauge roth färbte und auch mit Eisenchlorid rothe Färbung gab.

50 gr. Pyrogallol wurden in Wasser gelöst und mit 50 cbcm. concentrirter Aetzammoniakflüssigkeit in eine Flasche mit weiter Mündung gebracht, mit Wasser die Mischung auf 500 cbcm. gebracht und lose mit Papier bedeckt, öfter umgeschüttelt, bei warmer Sommertemperatur über 1 Monat stehen gelassen, dann mit ClH angesäuert, der braune reichliche Niederschlag abfiltrirt und mit Wasser gut anhaltend ausgewaschen. Durch Behandlung mit Alkohol wurde von dem Niederschlag nur wenig gelöst. Der nicht gelöste Theil wurde mit Hülfe von etwas Natronlauge in Wasser wieder gelöst, abermals mit ClH gefällt und so lange mit Wasser gewaschen, bis das ablaufende Filtrat nicht mehr hellgelb, sondern schwarzbraun gefärbt war. Diese letzten Filtrate gaben ebenso wie Lösungen der Huminsäuren aus Rohrzucker, Glycuronsäure, Phlobaphenen u. s. w. auf Zusatz von ClH oder ClNa flockige braune Niederschläge, während die Lösung nur eine hellgelbe Färbung behielt. Der ganze Niederschlag wurde dann feucht vom Filter genommen, in einer Schale auf dem Wasserbade getrocknet, fein zerrieben, mehrmals wieder mit Wasser und nach abermaligem Trocknen mit mehreren grossen Portionen Aether extrahirt und gewaschen. Die so vorbereitete Huminsäure, 14,85 gr., wurde mit dem 5fachen Gewicht Aetzkali und ebenso viel Wasser geschmolzen und dabei bis 245° erhitzt einige Zeit erhalten. In derselben Weise wurde der in Alkohol lösliche Theil der Huminsäure aus Pyrogallol und NH_3, im Ganzen 4,546 gr. an Gewicht, behandelt. Bei diesem Schmelzen destillirte mit dem Wasser eine sehr reichliche Quantität Ammoniak über.

Aus der angesäuerten Lösung wurde nach dem Abfiltriren der Hymatomelansäure durch Destillation eine geringe Menge

flüchtiger fetter Säure und durch Ausschütteln des Rückstandes mit Aether in demselben Oxalsäure in geringer Menge, etwas Pyrogallol und Protocatechusäure aufgenommen. Es wurde im Ganzen 0,5242 gr. bei 123° trocknes Bariumsalz der Protocatechusäure gewonnen, aber dasselbe war noch mit einer andern Säure verunreinigt, die nicht davon abgetrennt werden konnte. Es wurden nach mehreren Versuchen zur Reinigung statt 30,92% Ba gefunden 34,1% und selbst noch mehr.

Die Hymatomelansäure sah sehr dunkelbraun, fast schwarz aus und löste sich nicht sehr bereitwillig in Alkohol, durch die Löslichkeit in Wasser ging bei der Darstellung und Reinigung nicht wenig von ihr durch Auswaschen verloren. Die gut mit Wasser und Aether nach dem Trocknen gewaschene Hymatomelansäure ergab die folgenden analytischen Resultate:

XXVI. 0,1440 gr. Substanz bei 105° trocken gab 0,3012 gr. CO_2 und 0,0485 gr. H_2O.

XXVII. 0,1972 gr. Substanz bei 105° trocken gab 0,4148 gr. CO_2 und 0,0623 gr. H_2O.

	XXVI.	XXVII.
C	57,04%	57,44%
H	3,74 »	3,50 »

3. Darstellung und Eigenschaften von Huminsubstanzen aus abgestorbenen Pflanzentheilen.

1. Aus Corypha australis.

Wedel von Corypha australis, die erst vor Kurzem abgestorben waren, wurden nach Abtrennung der harten Stiele zerschnitten und erst mit kaltem Wasser, dann mit Alkohol, zuletzt mit sehr verdünnter Aetznatronlösung ausgezogen. Der Wasserauszug enthielt eisengrünenden Gerbstoff, der beim Schütteln der wässrigen Lösung mit Aether nicht in diesen überging, also nicht Protocatechusäure sein konnte. Beim Verdunsten des Wasserauszugs blieb ein Phlobaphen zurück von hellrother Farbe, das sich in Alkohol gut löste, auch der Alkoholauszug enthielt ein solches, besonders reichlich aber das alkalische Extract. Bei dem Schmelzen der braunen oder rothen Phlobaphene mit Aetzkali wurde relativ sehr reichlich

Protocatechusäure neben Pyrogallol und etwas von fetten flüchtigen Säuren gebildet, und zwar wurde Ameisensäure und Essigsäure nachgewiesen.

2. Aus Nadeln von Pinus Strobus excelsa.

In gleicher Weise wurden aus abgestorbenen, vom Baume sich gerade ablösenden Nadeln der Weymuthskiefer Phlobaphen oder Huminsäure durch verdünnte Aetznatronlösung aufgelöst, mit ClH gefällt, mit Wasser gewaschen, mit Alkohol gelöst, filtrirt, verdunstet und der Rückstand nach Waschen mit Wasser und Aether mit Aetzkali geschmolzen; die Behandlung der Schmelze, wie oben angegeben, ergab reichliche Hymatomelansäure, in Alkohol leicht löslich, die braune abfiltrirte Lösung bis auf die Hälfte abdestillirt lieferte im Destillat fette flüchtige Säuren, deren Bariumverbindung dargestellt wurde, und 0,3121 gr. noch etwas brauner Protocatechusäure (alle Reactionen gaben unzweifelhafte Resultate) aus 2,323 gr. lufttrockner Huminsäure.

Es wurden noch von Farnen und von mehreren Dicotylen die frisch abgestorbenen braunen Wedel und Blätter in der gleichen Weise untersucht und stets mit dem gleichen Resultate. Sehr reichlich und leicht krystallinisch darstellbar wurden Protocatechusäure und Brenzcatechin aus Huminsäure von abgestorbenen Blättern von Ficus elastica erhalten neben Hymatomelansäure von den beschriebenen Eigenschaften.

4. Huminsubstanzen aus Furfurol.

Gesättigte wässrige Lösung von Furfurol, ebenso verdünntere Lösungen, mit starker Salzsäure auf dem Wasserbade längere Zeit digerirt, geben bald Abscheidung fast schwarzer Niederschläge als feines Pulver und Häutchen an der Oberfläche. Die Einwirkung des Sauerstoffs der Luft scheint bei der Bildung dieser schwarzen Abscheidungen mitzuwirken. Dieser schwarze Niederschlag gut mit Wasser, dann mit Aether gereinigt, löst sich in verdünnter Natronlauge unter Aufquellen nur zum geringern Theil. Die Lösung abfiltrirt giebt ein braunes Filtrat, welches mit Salzsäure gefällt einen Nieder-

schlag giebt, der mit Wasser gut gewaschen sich in Alkohol leicht löst. Der nicht gelöste Körper erst mit salzsäurehaltigem Wasser, dann mit reinem Wasser gut ausgewaschen und getrocknet bildet ein schwarzbraunes staubendes Pulver, welches sich schwer mit Wasser benetzt. Bei dem Schmelzen von 9,3 gr. der lufttrocknen Substanz mit 50 gr. Aetzkali und etwas Wasser (Erhitzung längere Zeit zwischen 240—250°) ging nur ein Theil der Substanz in eine Hymatomelansäure über, daneben wurde eine aus der angesäuerten Lösung der Schmelze in Aether beim Ausschütteln übergehende Säure beim Abdestilliren des Aethers in schönen Krystallen, aber weder Protocatechusäure noch Brenzcatechin und nur Spuren von Oxalsäure erhalten. Die Säure kann erst nach Gewinnung reichlicheren Materials untersucht werden. Eine vorläufige Bariumbestimmung im Barytsalze derselben gab den Gehalt des brenzschleimsauren Barium.

5. Verhalten der Azulmsäure.

Azulmsäure geruchlos aber frisch gebildet aus starker Blausäure, wurde mit sehr verdünnter Natronlauge zusammengerieben und filtrirt, der ungelöst gebliebene Rückstand mit Wasser oftmals gewaschen. Es hatte sich ein bedeutender Theil zu einer dunkelbraunen Flüssigkeit gelöst, dieselbe wurde durch Ansäuern mit verdünnter Salzsäure gefällt, der Niederschlag gut mit Wasser gewaschen. Er besitzt braune Farbe und bildet voluminöse Massen, die langsam trocknen, den Huminsäuren aus Zucker u. s. w. sehr ähnlich, nur sehr wenig in Alkohol löslich, unlöslich in Aether, etwas löslich in Wasser sind. Die getrocknete Substanz wurde ebenso wie der in Aetzalkali nicht lösliche Theil der Azulmsäure mit der 5fachen Quantität Aetzkali und etwas Wasser auf 240—250° erhitzt im Oelbade, bis die Gasentwickelung nahezu beendet war. Als die erkaltete Schmelze mit Wasser und Schwefelsäure im geringen Ueberschuss versetzt war, fiel der intensive Blausäuregeruch auf. Die von dem voluminösen braunen Niederschlag abfiltrirte gelbe Flüssigkeit gab mit Ferrosumsulfat, Natronlauge und Salzsäure nicht wenig Berlinerblau. Es war also beim Schmelzen der Azulm-

huminsäure und ebenso des Humin Cyankalium entstanden, obwohl zugleich sehr reichlich Ammoniak in die Vorlage überging. Das nach dem Lösen und Ansäuern der erkalteten Schmelze mit verdünnter Schwefelsäure bei der Filtration erhaltene zunächst gelbe Filtrat verdunkelte sich allmälig und wurde in wenigen Stunden fast schwarz, es schieden sich zugleich blaue Flocken aus, die abfiltrirt das Filter blau färbten, sich nicht aus dem Filter wieder herauswaschen liessen und mit Aetzalkalilauge behandelt ihre blaue Farbe nicht änderten. Die Quantität dieses blauen Farbstoffs war zu gering zu einer eingehendern Untersuchung. Durch Ausschütteln mit mehreren Portionen Aether wurde keine Protocatechusäure erhalten, auch kein Brenzcatechin. Bei der Destillation des wässrigen Filtrats war etwas Essigsäure und Ameisensäure erhalten, deren Barytsalz untersucht wurde. Die Hymatomelansäuren waren in Alkohol unlöslich.

Die Azulmsäure ist sonach nicht als eine Huminsubstanz in der Weise anzusehen, wie die aus Gerbstoffen, Kohlehydraten, Protocatechusäure, Pyrogallol u. s. w. erhaltenen braunen Körper.

6. Huminsubstanzen aus Torf und Braunkohle.

Die Huminsubstanzen im Humus der Acker-, Wald-, Wiesen- und Gartenböden, sowie im Torf und in der Braunkohle stehen mehr oder weniger in Verbindung mit Calcium, Magnesium, Aluminium, Eisen, Mangan, Ammoniak; vielleicht nehmen auch Kalium und Natrium in geringem Maasse hier und da an diesen Verbindungen Theil, doch, wenn überhaupt, nur als sehr saure Salze, wie es auch mit dem Ammoniak der Fall ist. Um Humin und Huminsubstanzen aus ihnen zu erhalten, ist es zweckmässig, die fein gepulverten Substanzen zunächst mit 2- bis höchstens 5procentiger Salzsäure einige Zeit, ohne zu erwärmen, stehen zu lassen, dann abzufiltriren und oftmals mit Wasser auszuwaschen, ehe durch verdünnte Natronlauge die Huminsäure gelöst wird. Sowie bei den Huminstoffen der Gerbstoffe und der Kohlehydrate, ist auch hier das schleimige Aufquellen des Humin für die Trennung der Huminsäure recht hinderlich, indem hierdurch

das Auswaschen erschwert und die Filtrationen sehr verlangsamt werden.

Guter schwerer Torf und gute Braunkohle bestehen aus Humin und Huminsäure zum sehr grossen Theil. Braunkohlen enthalten oft sehr reichlich einen feinen Thonschlamm, der die Filtration sehr erschwert.

In die alkalische Lösung der Huminsäure geht auch etwas Humin über, vielleicht nur in sehr feiner Zertheilung und schleimig gequellt die Filterporen durchwandernd. Fällt man dann die filtrirte Lösung durch Salzsäure, wäscht aus, trocknet und löst wieder in verdünnter Lauge, so bleibt etwas Humin ungelöst. Nach genügend lange fortgesetztem Auswaschen der mit Salzsäure gefällten Huminsäure mit Wasser löst sich die feuchte gallertige Huminsäure in Alkohol stets zum grösseren oder geringeren Theil. Sie enthält wohl immer etwas Stickstoff und ist nach dem Trocknen anhaltend mit Aether zu waschen, da derselbe eine nicht geringe Quantität einer krystallisirbaren, in wässriger Alkalilauge löslichen farblosen oder hellgelben Substanz entfernt.

Die möglichst gereinigten Huminsäuren von Torf (von Hergatz im Allgäu und aus der Gegend von Bremen), ebenso die Huminsäure aus Braunkohle (von Nietleben bei Halle a. S.) wurden in der oben beschriebenen Weise mit dem 5fachen Gewicht Aetzkali geschmolzen bis 245° erhitzt, die Schmelze nach dem Erkalten unter Ansäuern gelöst, die Hymatomelansäure abgeschieden und gereinigt, in dem Filtrat auf fette flüchtige Säuren, Oxalsäure, Protocatechusäure, Brenzcatechin u. s. w. untersucht. Die Hymatomelansäure war stets frei von Stickstoff; der ganze Stickstoffgehalt ging als NH_3 beim Schmelzen mit Aetzkali in das Destillat über, dagegen erwies die Hymatomelansäure der Braunkohle sich noch als schwefelhaltig, selbst nach wiederholtem Schmelzen mit Aetzkali, wenn auch der Gehalt an Schwefel ein sehr geringer war, so dass er auf den procentischen Gehalt an C, H, O keinen bemerkbaren Einfluss üben konnte. In ihrem Verhalten gegen Lösungs- und Fällungsmittel, auch im übrigen Verhalten zeigte sie keine Verschiedenheit von den aus den

Huminkörpern des Rohrzuckers gewonnenen Hymatomelansäuren.

Die aus der Braunkohle dargestellte Huminsäure ist ebenso wie die Präparate anderer Herkunft sehr hygroscopisch.

0,9120 gr. lufttrockne Huminsäure verlor im Luftbade beim Erhitzen bis 140° 0,1733 gr. oder 19,00% ihres Gewichtes.

0,8068 gr. lufttrockne Huminsäure im Liebig'schen Trockenrohr im Oelbade erhitzt verlor durch trocknen Luftstrom bei 100° 0,1496 gr. H_2O, dann bis 120° erhitzt 0,0037 gr. und dann bis 140° erhitzt noch 0,0035 gr. an Gewicht. Der gesammte Gewichtsverlust 0,1568 gr. entspricht 19,435%. An der freien Luft nimmt die so getrocknete Huminsäure sehr bald wieder an Gewicht zu.

0,4680 gr. bei 140° getrocknete Huminsäure gab 0,0072 gr. oder 1,54 gr. Asche. Dieselbe besteht aus Thon, der offenbar in sehr feiner Zertheilung bei allen Filtrationen in geringer Menge die Filterporen durchwandert.

XXVIII. 0,2043 gr. aschefrei berechnete Huminsäure gab 0,4787 gr. CO_2 und 0,0836 gr. H_2.

XXIX. 0,2208 gr. aschefrei berechnete Huminsäure gab 0,5142 gr. CO_2 und 0,0867 gr. H_2O.

XXX. 0,2092 gr. aschefrei berechnete Huminsäure gab 0,4872 gr. CO_2 und 0,0825 gr. H_2O.

XXXI. 0,2984 gr. aschefrei berechnete Huminsäure gab 0,6838 gr. CO_2 und 0,1065 gr. H_2O.

XXXII. 0,2615 gr. aschefrei berechnete Huminsäure gab 0,6080 gr. CO_2 und 0,1005 gr. H_2O.

XXXIII. 0,3157 gr. aschefrei berechnete Huminsäure gab 0,0150 gr. Pt (Bestimmung nach Will-Varrentrapp).

Hiernach enthält diese Huminsäure aus Braunkohle gewonnen und bei 115° getrocknet in 100 Gewichtstheilen aschefrei berechnet:

							Mittel:
C	63,90	63,51	63,51	62,50	63,11	—	63,31
H	4,55	4,36	4,38	4,21	4,27	—	4,35
N	—	—	—	—	—	0,68	0,68

Es wurden mehrere Portionen eines Barytsalzes durch Fällung der ammoniakalischen Lösung der Huminsäure mit Bariumchlorid unter Ausschluss von CO_2 dargestellt.

Von der ersten Portion gab:

0,4664 gr. bei 117° trocknes Bariumsalz 0,1649 gr. $BaSO_4$ oder 20,79 % Ba.

Von der zweiten Portion gab:

0,5409 gr. bei 117° getrocknetes Salz 0,1714 gr. $BaSO_4$ oder 20,92 % Ba.

Von der dritten Portion gab:

0,5059 gr. bei 111° trocknes Salz 0,1879 gr. $BaSO_4$ oder 21,84 % Ba und

0,5118 gr. Salz bei 113° trocken gab 0,1604 gr. $BaSO_4$ oder 21,74 % Ba.

XXXIV. Von der ersten Portion gab mit chromsaurem Blei im Schiffchen verbrannt 0,2350 gr. aschefrei berechnete Substanz 0,4213 gr. CO_2, 0,0713 gr. H_2O und 0,0842 gr. $BaSO_4$.

Hiernach enthielt dies Salz in 100 Gewichtstheilen:

	Gefunden:	Berechnet: $C_{26}H_{22}O_{11}Ba$	Berechnet: $C_{27}H_{22}O_{11}Ba$
C	48,89	48,22	49,17
H	3,37	3,40	3,34
Ba	21,02	21,17	20,79

Die freie Säure müsste hiernach die Zusammentzung haben:

C	26	60,93 %
H	24	4,69 »
O	11	— »

Die gefundenen Werthe für die freie Säure sprechen dafür, dass sie als Anhydrid anzusehen ist:

		Berechnet:	Mittel gefunden:
C	26	63,15 %	63,31 %
H	22	4,44 »	4,35 »
O	10	— »	— »

Es wurden 51 gr. dieser Huminsäure in Portionen von 6—7 gr. mit dem 5fachen Gewicht Aetzkali geschmolzen und dabei bis 245° erhitzt, die Schmelze in oben geschilderter Weise behandelt gab neben relativ reichlicher Oxalsäure 0,1997 gr. schon ziemlich gereinigte Protocatechusäure, deren Bariumsalz 31,36 % Ba ergab, während die Rechnung für $(C_7H_5O_4)_2Ba$ 30,92 % Ba fordert (0,0934 gr. Salz bei 120° trocken gab 0,0498 gr. $BaSO_4$). Als die dargestellten 41,34 gr. Hymatomelansäure nochmals mit Aetzkali geschmolzen wurden, bildete sich von Neuem Protocatechusäure 0,1034 gr. Aus

dem Destillat nach Auflösung und Ansäuern der Schmelze waren nach dem ersten Schmelzen 1,9374 gr. bei 144° trocknes Barytsalz der flüchtigen Säuren erhalten, nach dem zweiten Schmelzen 1,1673 gr. Barytsalz derselben. Von der ersten Portion gab 0,7050 gr. bei 150° trocknes Salz 0,6519 gr. $BaSO_4$ entsprechend 54,37 % Ba, von der zweiten Portion gab 0,5481 gr. Salz bei 150° trocken 0,5054 gr. $BaSO_4$ entsprechend 54,23 % Ba. Als von dem übrigen Salz die Ameisensäure durch Silberoxyd zersetzt, das gelöste Silber mit SH_2 entfernt, die filtrirte Lösung mit $CaCO_3$ gesättigt, abgedampft und mit Silbersalpeter gefällt und der Niederschlag gewaschen und getrocknet war, gab 0,1730 gr. Silbersalz 0,1122 gr. Ag oder 64,86 % Ag, während die Rechnung für $C_2H_3O_2Ag$ 64,66 % Ag verlangt. Auch hier wie bei den künstlich gewonnenen Huminsäuren waren es Ameisensäure, Essigsäure, Oxalsäure, Protocatechusäure, die neben der Hymatomelansäure durch Schmelzen mit Aetzkali erhalten wurden. Aus 51 gr. lufttrockner Huminsäure wurden beim Schmelzen mit Aetzkali das erste Mal 41,34 gr., nach dem zweiten Schmelzen nur 34,000 gr. Hymatomelansäure lufttrocken gewonnen. Die Hymatomelansäuren des Torfes und der Braunkohlen zeigen im Verhalten keine Verschiedenheiten gegenüber denen der Phlobaphene und der Huminstoffe des Rohrzuckers.

Vergleichung der Resultate.

Sowohl von den Gerbstoffrothen als von den Huminsubstanzen müssen drei Gruppen unterschieden werden je nach ihrer Löslichkeit in Alkalilauge und Alkohol. Die erste Gruppe umfasst die Stoffe, welche weder in Alkohol noch in Alkalilauge löslich sind, sich mit Alkali zu verbinden vermögen zu schleimigen schwierig auszuwaschenden Massen, dabei beharrlich Alkali festhalten und beim Schmelzen mit Aetzkali in Körper der beiden andern Gruppen übergeführt werden. Diese Gruppe fasst in sich die Humine und Ulmine nach Mulder u. A.

Der zweiten Gruppe gehören die Körper zu, welche in Aetzalkalilaugen selbst bei grosser Verdünnung vollkommen

löslich sind, durch Säure aus dieser Lösung ausgefällt als voluminös-gallertige wasserreiche Niederschläge in Alkohol sich nicht auflösen. Ein Theil der Gerbstoffrothe und der Humin- und Ulminsäuren sind hierher zu stellen.

Die dritte Gruppe zeigt gegen Aetzalkalilaugen dasselbe Verhalten wie die zweite Gruppe, aber die wasserreichen voluminösen Niederschläge, welche durch Salzsäure aus ihrer Alkalilösung erhalten werden, lösen sich nach völligem Auswaschen mit viel Wasser leicht und vollständig in Alkohol auf, bilden beim Abdestilliren des Alkohols aus diesen Lösungen bei genügender Concentration eine sich runzelnde Haut an der Oberfläche, erstarren dann nach dem Erkalten zu gallertigen brüchigen Massen, die beim Erwärmen auf dem Wasserbade wieder schmelzen, nach dem Trocknen in Alkohol gar nicht oder sehr unvollkommen löslich sind. In diese Gruppe gehören die Phlobaphene der Rinden und Extracte, ein Theil der Humin- und Ulminsäuren und die braunen Säuren, denen ich zur vorläufigen Untersuchung den Namen Hymatomelansäuren gegeben habe, in welche alle Substanzen der ersten und zweiten Gruppe durch Schmelzen mit Aetzkali übergeführt werden.

Soweit diese Stoffe der 3 Gruppen zusammengemischt auftreten, ist ihre Trennung dadurch sehr erschwert, dass die schleimigen in Alkalilauge nicht gelösten und nur gequollenen Körper die Filter verstopfen und leicht theilweise die Filterporen durchwandern. Dies ist bei den Gerbstoffrothen, den Huminstoffen des Rohrzuckers und der Glycuronsäure der Fall, ebenso bei den Huminstoffen des Torfes und der Braunkohle.

Eine Vergleichung der Zusammensetzung der untersuchten Huminsubstanzen ergiebt für 100 Gewichtstheile:

	Im Mittel:			
Aus Rohrzucker durch Salzsäure dargestellt:	C	H	O	N
Humin	63,88	4,64	31,48	—
Huminsäure	64,39	4,73	30,88	—
Aus Glycuronsäure durch Salzsäure erhalten:				
Humin	60,64	4,10	35,26	—
Huminsäure	60,64	4,13	35,23	—
Aus Braunkohle erhalten Huminsäure . . .	63,31	4,35	31,66	0,68

Die Procente Kohlenstoff und Wasserstoff sind bei den Huminen und Huminsäuren derselben Herkunft nicht wesentlich verschieden; dagegen sind C- und H-Gehalt der Huminsubstanzen der Glycuronsäure beide viel geringer, also der Sauerstoffgehalt viel höher, als in den übrigen Huminkörpern, die hier untersucht sind. Es schliessen sich diese Derivate der Glycuronsäure den Gerbstoffrothen der Kastanienrinde in der zweiten oder dritten Rochleder'schen Gruppe an, für welche ungefähr die Formel $C_{26}H_{22}O_{11}$ einen Ausdruck giebt. Man ist wohl berechtigt, anzunehmen in Bezug auf diese analytischen Ergebnisse, dass ebenso, wie es sich für die Gerbstoffrothe und Phlobaphene ergeben hat, auch die Huminsubstanzen verschiedene Zusammensetzung erhalten, 1. je nach den Stoffen, aus denen sie gebildet werden, 2. je nach der Concentration der Lösung und der Stärke der einwirkenden Säure, 3. der Temperatur. Eine Wasserabspaltung scheint stets ihre Entstehung aus den Kohlehydraten, sowie aus den Gerbstoffen zu veranlassen.

Viele natürlich vorkommende, sowie auch künstlich dargestellte Huminsubstanzen haben grösseren oder geringeren Stickstoffgehalt. Die Untersuchungen von v. Udránszky[1]) haben zuerst erwiesen, dass bei Einwirkung von mässig starker Säure auf Rohrzucker bei Anwesenheit von Harnstoff sich stickstoffhaltige Huminsubstanzen bilden. Die Erscheinung ist ja allerdings nicht besonders auffallend, dass bei der Wasserentziehung eine Anfügung von Harnstoff oder eines Restes von Harnstoff erfolgt, aber der Udránszky'sche Versuch zeigt recht deutlich, dass man sich hüten muss anzunehmen, dass die Elemente, speciell der Stickstoff mit C und H bereits in der Verbindung enthalten gewesen seien, in welcher wir sie bei der Abscheidung mit Säure aus den Kohlehydraten antreffen. Die oben geschilderten Versuche mit Protocatechusäure und mit Pyrogallol und Ammoniak unter Einwirkung des Sauerstoffs der Luft haben ergeben, dass die Anfügung von Ammoniak in feste, nicht salzartige

---

[1]) L. v. Udránszky, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XII, S. 42.

Verbindung auch hierbei erfolgt. Die unter diesen Verhältnissen gebildeten Huminsäuren wurden mit Salzsäure abgeschieden, gut ausgewaschen, wieder in Alkalilauge gelöst, abermals durch Salzsäure abgeschieden und sorgfältig mit Wasser ausgewaschen. Als diese Huminsäuren dann mit Aetzkali geschmolzen wurden, gingen reichliche Quantitäten Ammoniak in die Vorlage über und die in der Retorte zurückbleibende Schmelze war stickstofffrei.

Die Entwickelung von Ammoniak beim Schmelzen mit Aetzkali hat sich bei allen untersuchten Huminstoffen eingestellt, die stickstoffhaltig waren, also auch bei denen des Torfes und der Braunkohle. Die untersuchten Platindoppelsalze des gereinigten Destillates gaben einen Platingehalt, der nahezu stets dem $PtCl_6(NH_4)_2$ entsprach. Wenn der Stickstoffgehalt sehr bedeutend ist, kann ein wiederholtes Schmelzen mit Aetzkali erforderlich werden, um den Stickstoff ganz zu entfernen.

Bei dem Schmelzen mit dem fünffachen Gewicht Aetzkali, Erhitzen der Schmelze bis 240—245° im Oelbade und Erhalten bei dieser Temperatur, bis das feinblasige Aufschäumen nachgelassen hat, werden die sämmtlichen untersuchten Gerbstoffrothe, Phlobaphene, Humine und Huminsäuren übergeführt in braungefärbte Säuren, die in gefälltem feuchten Zustand mit Alkohol übergossen sich bereitwillig in demselben lösen, in Wasser wenig und in Aether gar nicht löslich sind.

Diese durch Schmelzen mit Aetzkali dargestellten Huminsäuren, denen ich zum Unterschiede von den ursprünglichen Substanzen, aus denen sie erhalten sind, den vorläufigen Namen Hymatomelansäuren gegeben habe, sind in ihrer procentischen Zusammensetzung nicht übereinstimmend gefunden. 100 Gewichtstheile bei 105—117° getrockneter Hymatomelansäure haben geordnet nach ihrer Herkunft folgende Gewichte Kohlenstoff und Wasserstoff ergeben:

Aus Eichenphobaphen:					Im Mittel:
C	65,30	65,41	64,88	64,64	65,06
H	4,29	4,32	4,08	4,19	4,22

						Im Mittel:
Aus Rohrzucker:						
Vom Humin:	C	65,45	65,65	—	—	65,55
	H	4,69	4,70	—	—	4,70
Von der Huminsäure:	C	65,37	—	—	—	65,37
	H	4,22	—	—	—	4,22
Aus Glycuronsäure:						
Vom Humin:	C	64,87	—	—	—	64,87
	H	4,34	—	—	—	4,34
Von der Huminsäure:	C	58,76	58,83	—	—	58,80
	H	3,73	3,54	—	—	3,64
Aus Protocatechusäure, NH_3 und O_2:						
	C	57,24	57,41	56,97	—	57,20
	H	—	3,15	3,17	—	3,16
Aus Pyrogallol, NH_3 und O_2:						
	C	57,04	57,44	—	—	57,24
	H	3,74	3,50	—	—	3,62

Es stimmt nach dieser Vergleichung überein die Hymatomelansäure aus Eichenphlobaphen mit derjenigen aus Huminsäure dargestellt aus Rohrzucker. Die aus dem Humin des Rohrzuckers und der Glycuronsäure erhaltenen Hymatomelansäuren sind wenig von jenen in der Zusammensetzung verschieden, die erstere ist reicher an Wasserstoff, die letztere ärmer an Kohlenstoff, doch ist zu beachten, dass einige Analysen der aus Eichenphlobaphen gewonnenen Säure nahezu mit letzterer übereinstimmen.

Die Zusammensetzung der Hymatomelansäure aus der Huminsäure, welche aus Glycuronsäure gewonnen war, erscheint um so weniger erklärlich, als Humin und Huminsäure aus der Glycuronsäure vor dem Schmelzen mit Aetzkali gar keine Verschiedenheit im Gehalt an Kohlenstoff und Wasserstoff ergeben hatten. Ich bin deshalb geneigt anzunehmen, dass durch eine Oxydation aus unbekannter Ursache die Hymatomelansäure dieser Huminsäure verändert ist.

Die aus Protocatechusäure und aus Pyrogallol unter Einwirkung von NH_3 und Sauerstoff erhaltenen Huminsäuren wurden nicht analysirt, weil sie durch hohen Stickstoffgehalt eine abweichende Zusammensetzung unzweifelhaft ergeben mussten. Die durch Schmelzen mit Aetzkali aus ihnen erhal-

tenen Hymatomelansäuren zeigen sehr niedrigen Gehalt an Kohlenstoff und Wasserstoff, dementsprechend besonders hohen Sauerstoffgehalt, nämlich 39,64% in der aus der Protocatechusäure und 39,14% in der aus Pyrogallol erhaltenen Säure. Es entstehen die Huminsäuren in alkalischer Lösung aus Protocatechusäure und aus Pyrogallol durch Einwirkung des Sauerstoffs der Luft. Es ist erwiesen, dass hierbei kräftige Oxydation stattfindet; mag nun dieselbe gleich bei der Aufnahme des Sauerstoffs der Luft die Huminsubstanz treffen oder erst Nitrit aus dem Ammoniak gebildet werden und dies dann zur Wirkung gelangen, jedenfalls ist die Bildung dieser Huminsäuren aus Protocatechusäure, Pyrogallol und wohl ebenso aus Chinon, Brenzcatechin, Indoxyl und zahllosen andern aromatischen Körpern ein Vorgang, der sich von einer energischen Oxydation nicht ohne Weiteres trennen lässt und insofern durchaus verschieden ist von der Bildung der Huminstoffe aus Gerbstoffen und Kohlehydraten durch Einwirkung von Säuren, welche bei der Gegenwart oder Abwesenheit von Sauerstoff in gleicher Weise verläuft. Aus dem Pyrogallol wurden neben der Huminsäure bei Einwirkung von NH_3 und O_2 reichlich Purpurogallin gebildet und aus der Protocatechusäure eine Substanz krystallisirt in nicht geringer Menge gebildet, welche der Gallussäure ganz ähnlich sich verhält und wohl damit identisch sein wird (ihre Untersuchung wurde verschoben). Es wird voraussichtlich gelingen, diese Hymatomelansäuren aus denen der Kohlehydratderivate durch Oxydation darzustellen.

Neben den Hymatomelansäuren wurden beim Schmelzen mit Aetzkali aus den Huminsubstanzen des Rohrzuckers, der Glycuronsäure, des Torfes, der Braunkohlen, der abgestorbenen Blätter und Wedel der verschiedensten Pflanzen, der Protocatechusäure und des Pyrogallol erhalten: Ameisensäure, Essigsäure (zuweilen auch geringe Mengen anderer fetter Säuren von höherem CH_2-Gehalt), Oxalsäure, Protocatechusäure, häufig auch etwas Brenzcatechin. Dieselben Körper entstehen auch aus Cellulose beim Schmelzen mit Aetzkali, aber ohne gleichzeitige Bildung von Hymatomelansäure. Rochleder

und Hlasiwetz und seine Schüler haben bereits nachgewiesen, dass die Gerbsäuren, Gerbstoffrothe und Phlobaphene beim Schmelzen mit Aetzkali constant Protocatechusäure liefern. Aus Eichenroth und Eichenphlobaphen erhielt ich bei dieser Behandlung reichlich Protocatechusäure, daneben Ameisensäure, Oxalsäure, Essigsäure und Hymatomelansäure, wie oben beschrieben ist. Die junge Eichenrinde, sowie das ganz junge Eichenlaub ist reich an Protocatechusäure; in der Rinde findet sich daneben Gallussäure, auch etwas Ellagsäure wurde gewonnen. Die aus Furfurol mit Säure oder mit Alkalilauge gewonnenen Huminsubstanzen gaben mit Aetzkali geschmolzen keine Protocatechusäure, sind aber noch weiter zu untersuchen.

Die Azulmsäure zeigt beim Schmelzen mit Aetzkali ein wesentlich anderes Verhalten. Protocatechusäure tritt nicht auf, die aus der Schmelze abgeschiedenen Huminsubstanzen waren noch stickstoffhaltig und im chemischen Verhalten den Hymatomelansäuren verschiedener Herkunft nur in der Löslichkeit in Alkalilauge und der Farbe ähnlich.

Herr v. Udránszky[1]) hat Farbstoffe des Pferdeharns, des Hundeharns nach Verabreichung von Brenzcatechin und die Huminstoffe, welche der Harn beim Kochen mit Salzsäure liefert, untersucht und gleichfalls Hymatomelansäuren neben Protocatechusäure etc. aus ihnen beim Schmelzen mit Aetzkali erhalten, wenn auch die procentische Zusammensetzung derselben etwas abweichende Resultate ergeben hat.

Im Anschluss an die Arbeiten von Rochleder und Hlasiwetz werden für die in obiger Weise dargestellten Hymatomelansäuren der Phlobaphene und der Kohlehydrate vorläufig die empirischen Formeln $C_{26}H_{22}O_9$ und $C_{26}H_{20}O_9$ angewendet werden können.

	Für $C_{26}H_{20}O_9$:	Für $C_{26}H_{22}O_9$:
C	65,55 %	65,27 %
H	4,20 »	4,60 »

Es würden dies Anhydride sein, deren Säuren (frei wahrscheinlich kaum darstellbar) in den Salzen zu $C_{26}H_{22}O_{10}$ und

---

[1]) L. v. Udránszky, diese Zeitschr., Bd. XII, S. 53—63.

$C_{26}H_{24}O_{10}$ anzunehmen sind. Die Bariumverbindung der aus dem Rohrzuckerhumin dargestellten Hymatomelansäure (durch Fällung der Ammoniaklösung der Säure in CO_2-freier Atmosphäre durch $BaCl_2$) hat den Bariumgehalt 23,93, 23,46, 23,34 % Ba ergeben. Diese Werthe sind unzweifelhaft zu hoch. Weitere Bestimmungen sind erforderlich.

Ich behalte mir vor, über die Versuche zu berichten, die ich angestellt habe, um aus den Hymatomelansäuren chemisch besser definirbare Substanzen zu erhalten, da dieselben noch nicht beendet sind. Auch über die normalen und pathologischen Farbstoffe des Thierkörpers bezüglich ihrer Zugehörigkeit zu den Huminsubstanzen und der Gefahren ihrer Verunreinigung durch letztere hoffe ich bald Mittheilungen machen zu können. Hämatin wird bei dem Schmelzen mit der 5fachen Quantität Aetzkali und etwas Wasser, Erhitzen damit bis 250° und stundenlangem Erhalten der Schmelze auf der Temperatur 240—250° im Oelbade nicht verändert. Löst man die Schmelze dann in Wasser unter Ansäuern mit Schwefelsäure und filtrirt, so erhält man ein farbloses Filtrat und in demselben keine Zersetzungsprodute des Hämatins. Das Hämatorporphyrin bleibt bei dieser Behandlung nicht ungeändert, giebt aber keine in Wasser löslichen Producte. Oxyhämoglobin liefert beim Schmelzen mit Aetzkali kein Hämatin, sondern eine Reihe interessanter Körper, von denen der eine sich an der Luft alsbald in einen dem Urobilin sehr ähnlichen Körper verwandelt, den ich früher durch Reduction aus Hämatin erhalten und beschrieben habe. Er ist leicht löslich in Chloroform, weniger in Aether, zeigt im durchfallenden Lichte röthliche Farbe, im auffallenden Lichte grüngelben Metallglanz. Seine Lösungen zeigen den Absorptionsstreifen im Spectrum zwischen den Linien b und F sehr scharf. Protocatechusäure und Brenzcatechin entstehen nicht.

Während der Hauptbestandtheil des festen Gerüstes der Pflanzen, die Cellulose, ein Körper von grosser Festigkeit und Beständigkeit in der Luft, im feuchten Boden und im Wasser durch Einwirkung von Spaltpilzen allmälig vollständig zu Gasen umgewandelt wird und verschwindet, bildet sich beim par-

tiellen oder allgemeinen Tod der Pflanzen eine Reihe von Stoffen aus sehr veränderlichen Bestandtheilen der Zellen, Saftgefässe und ihrer Verdickungsschichten, die, wenn auch nach der einen oder andern Richtung leicht Verbindungen und Veränderungen eingehend, doch dabei eine so ausserordentliche Beständigkeit zeigen, dass man ein Recht hat, sie unter den an der Erdoberfläche und und im Boden und Schlamm obwaltenden Verhältnissen als unzerstörbar anzusehen. Sie sind den beständigsten Mineralien an die Seite zu stellen. Durch ihre Fähigkeit, in ihre Poren und in lockere Verbindung eine recht bedeutende Menge Wasser aufzunehmen und nur langsam wieder abzugeben, mit Ammoniak und Alkalimetalle in Salzverbindungen einzutreten, die schon durch schwache Säuren, aber nicht durch Kohlensäure gelöst werden, bieten sie in ihrer Substanz den Wurzeln der Pflanzen Magazine für ihre Nahrung und in ihrer weichen, elastischen Krume Wege und Haftpunkte für ihr Wachsthum und ihren Halt. Sie gewähren einer grossen Zahl der verschiedensten Thiere, auch vielfach Spaltpilzen, andern Pilzen, Algen, Wohnung und Substrat, aber keine Pflanze und kein Thier ist im Stande, sie zu verdauen und als Nahrung zu verwenden, und kein Spaltpilz ruft in ihnen eine Zersetzung hervor. Fallen sie nicht schliesslich einem Brande oder einer von aussen her, durch andere Stoffe veranlassten, Oxydation anheim, so scheinen sie ewig im Wesentlichen ungeändert zu bleiben. Im Torf und in der Braunkohle sehen wir sie viele Jahrtausende überdauern, indem sie auf die anliegenden Gesteinsschichten auch nicht die geringste Einwirkung ausüben. Die Huminsubstanzen sind sogar, besonders in ihren Verbindungen (Dopplerit) mit Calcium, mit Eisen und mit Magnesium, im Stande, nicht allein in ihre Ablagerungen hineingerathene Stücke von Holz und andern an sich weniger haltbaren Stoffen, auch die zartesten Zellenmembranen vor der Zersetzung viele Jahrhunderte und Jahrtausende zu bewahren[1]), indem sie in

---

[1]) Der vorzügliche Kenner des Torfes, J. Früh in Trogen, sagt in seinen Kritischen Beiträgen zur Kenntniss des Torfes, Jahrb. d. k. k. geolog. Reichsanstalt, 1885, Bd. 35, Heft 4, S. 723, dass die Bacterien bei der

ihre Poren und Fugen imprägnirt der Thätigkeit der Spaltpilze die Wege verlegen. Hierdurch wird es erklärlich, dass in den Resten der Pfahlbauten die Bestandtheiles des Holzes und selbst in der Braunkohle noch Cellulose in Holzstücken zu finden ist. Wie sehr die Imprägnirung mit einer wenig veränderlichen Substanz die leicht zersetzlichen Stoffe schützen kann, beweist u. A. die Erhaltung der leimgebenden Substanz im lohgahren Leder und im Zahnbein in fossilen Zähnen. So werden auch die im Bernstein eingeschlossenen Insecten noch unverändertes Chitin enthalten, vielleicht auch noch leichter zersetzliche animale Stoffe. Die fetten Säuren von höherem Moleculargewicht, hauptsächlich Palmitinsäure und Stearinsäure, sind unfähig, durch Gährung zu zerfallen, ebenso wie die Huminkörper. Es ist kürzlich von C. Engler die Ansicht ausgesprochen[1]) und durch Versuche sehr wahrscheinlich gemacht, dass diese fetten Säuren (das Leichenwachs) untergegangener Thiere die Bildung des Erdöls veranlassten, indem sie unter Druck einer nicht sehr hohen Erhitzung ausgesetzt waren. Von Chemikern und Geologen ist in neuerer Zeit diese Hypothese mehr und mehr begründet und es steht ihr keine andere gegenüber, welche Beachtung beanspruchen kann, nur darf man sich nicht auf Versuche mit den Fetten (d. h. den Glycerinverbindungen), auch nicht mit den freien fetten Säuren, sondern mit den Calcium-, Magnesium-Verbindungen stützen, wenn

---

Vertorfung wahrscheinlich keine bedeutende Rolle spielen, hierfür spreche die gute Erhaltung der zarten Algenformen. Die Zellenmembran ulmificire von aussen nach innen, so dass häufig nach Entfernung des Ulmins mit Kalilauge eine helle Membran zum Vorschein komme, welche sehr oft noch die Cellulosereaction zeigt. Er fand in Versuchen mit Sacculums im feuchten Zustand unter einer Glasglocke in offener Schale 2 Jahre lang erhalten wohl Mycelien von einem Schimmelpilz, aber keine Bacterien, und die Ulminkügelchen waren ganz unverändert geblieben. Früh citirt auch eine Mittheilung von Lesquereux in Columbus (Ohio U. St.), nach welcher das braune Wasser des Mississippi, welcher aus Torfmooren von Minesota entspringt, diese Farbe bis St. Louis, wo der Missuri einfliesst, beibehält, offenbar wegen diesem Gehalt an Huminsäure der Verderbniss nicht ausgesetzt ist und deshalb von den Schiffen für lange Seereisen mitgenommen wird.

[1]) Ber. d. d. chem. Gesellsch., Bd. XXI, S. 1816, 1888.

man durch das Experiment die Erdölbildung nachahmen will, da nur solche Salzverbindungen von Dauer sein können.

Werden die Huminsubstanzen vorher bei 110° getrockne allmälig höher erhitzt, so stellt sich Gasentwickelung ein ohne wesentliche Wasserverdampfung und ohne dass die Huminsubstanz sich bläht oder sonst ihre Form verändert. Erst viel später, bei höher und höher gesteigerter Temperatur, erscheinen auch empyreumatische Stoffe in nicht erheblicher Quantität als Destillat. Aus 2,3124 gr. bei 110° getrockneter Hymatomelansäure (aus Rohrzuckerhuminsäure dargestellt) wurden beim Erhitzen im Sandbad bis gegen 400° erhalten 0,9260 gr. Gase und Destillat; der Rückstand besitzt das Aussehen von Steinkohlen. Das entwickelte Gas enthielt 62,15 Vol.-% Kohlensäure, daneben Methan und kohlenstoffreichere Kohlenwasserstoffe. Auch huminsaurer Baryt aus Braunkohle dargestellt, bei 111° getrocknet, im Glasrohr erhitzt unter Einleiten des Gases in ein kleines Quecksilbergasometer gab reichlich Gas, mit CO_2 49,56 Vol.-%, CH_4 31,18 Vol.-%, im Uebrigen 19,26 Vol.-% N_2 und ein wenig O_2; beide letztere Gase sind Reste der miteingeschlossenen atm. Luft. Man hat wohl insofern ein Recht anzunehmen, dass die Steinkohlen aus den Huminstoffen durch Erhitzung entstehen, weil kaum eine andere Möglichkeit übrig bleibt. Backende Kohle kann nur dann aus ihnen entstehen, wenn noch andere Einschlüsse in den Torf- oder Braunkohlenlagern enthalten sind. Kohlensäure und Methan sind die so häufig in den Steinkohlen eingeschlossenen und stark comprimirten Gase. Wie es aber geschehen kann, dass in den Bläsern der einen Steinkohlenflötze fast reines Methan, in andern ein Gemisch von CO_2 und CH_4, in wieder andern fast allein CO_2 auftritt, dürfte sich aus den bisher gemachten Erfahrungen noch nicht genügend erklären lassen.

Am Schlusse einer Zusammenstellung der von ihm und seinen Schülern über die mannigfaltigen Gerbsäuren, ihre Gerbstoffrothe und Phlobaphene gemachten Untersuchungen und deren Resultaten sagt Hlasiwetz[1]):

---

[1]) Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 143, S. 310, 1867.

«So gering auch die Bedeutung der Phlobaphene im chemischen System sein mag, um so grösser ist sie im Leben der Pflanzen.»

«Nie fehlende Producte des Stoffwechsels in strauch- und baumartigen Gewächsen, erzeugt sie die Vegetation in ungeheuren Quantitäten, erfüllt damit das ganze Zellgewebe der äusseren Bedeckungen und bedingt mit durch sie den Charakter ihrer Erscheinung.»

Ohne Zweifel mit vollem Recht hebt Hlasiwetz die hohe Bedeutung der Phlobaphene für das Leben der Pflanzen hervor, aber die lebende Pflanze verwendet sie eigentlich nicht in den lebenden Theilen, sondern die absterbenden Theile in der Rinde füllen sich damit und gewähren der lebenden Pflanze eine vortreffliche schützende Decke — die nicht verwest und den Spaltpilzen keine Nahrung giebt.

Der Uebergang der Phlobaphene in die Huminsubstanzen geschieht ohne definirbare Abgrenzung und die Spaltungsproducte beider sind, wie oben nachgewiesen ist, die gleichen. Im Humus, Torf und in der Braunkohle sind diesen Huminsubstanzen in grösserer oder geringerer Menge Stoffe beigemengt, wie die Stoffe des Lignin, des Wachsüberzugs der Pflanzen und der fetten Säuren aus den Fetten der Pflanzen und der Thiere, auch Harze. Nicht alle diese Beimengungen sind durch Aether oder Chloroform zu entfernen und widerstehen der Fäulniss vollständig.

Die chemisch noch meist uninteressanten, z. Thl. recht ermüdenden, langwierigen, aber practisch, wie ich glaube, nicht unwichtigen Arbeiten, welche die beschriebenen Untersuchungen über die Huminsubstanzen erfordert haben, sind sehr wesentlich gefördert worden durch die vielfache vortreffliche Unterstützung, welche Herr Dr. G. Lange, Assistent am physiologisch-chemischen Institut, bei ihrer Ausführung mir hat zu Theil werden lassen.

Zur Kenntniss der Kohlehydrate im normalen Harn.

Von

Dr. N. Wedenski aus St. Petersburg.

(Der Redaction zugegangen am 21. Juni 1888.)

Die Frage, ob der normale Harn Kohlehydrate enthält, ist bekanntlich oft Gegenstand der Untersuchung gewesen. Während einige Autoren, wie Brücke, Bence Jones, Pavy, Huizinga, Abeles u. A., aus ihren Versuchen auf das constante Vorkommen kleiner Mengen von Zucker im Harn schlossen, gelangten andere (Seegen, Külz, Moscatelli) zu einem entgegengesetzten Resultate, insofern es ihnen trotz Verarbeitung grosser Mengen normalen Harns nicht gelang, das Vorhandensein des Zuckers in demselben festzustellen, beziehungsweise Zucker aus dem Harn zu isoliren.

Durch neuere Untersuchungen ist diese alte Streitfrage zu einem endgiltigen Abschlusse gelangt und das Vorkommen von geringen Mengen von Kohlehydraten im normalen Harn mit Sicherheit festgestellt[1]). Dagegen fehlen noch genauere Ermittelungen über die Natur dieser Kohlehydrate im Harn. Zwar gelang es Landwehr[2]) schon vor mehreren Jahren, ein dextrinartiges Kohlehydrat, das thierische Gummi, aus dem menschlichen Harn darzustellen. Allein auch über das Vorkommen dieser Substanz im Harn fehlen zur Zeit noch genauere Angaben.

---

[1]) L. v. Udránszky, diese Zeitschr., Bd. 12, S. 377 ff.; vergl. auch Molisch, Sitzungsber. d. math.-naturw. Classe d. k. Acad. d. Wissensch., Wien, XCIII. Bd., II. Abth., S. 912.

[2]) Centralbl. f. d. med. Wissensch., 1885, S. 369.

Vor einigen Jahren fand E. Baumann[1]), dass die Kohlehydrate aus sehr verdünnten wässerigen Lösungen leicht in Form ihrer ganz unlöslichen Benzoylverbindungen abgeschieden werden können und dass jeder normale Harn beim Schütteln mit Benzoylchlorid und Natronlauge Niederschläge solcher Benzoylverbindungen liefert.

Auf Veranlassung des Herrn Prof. Baumann habe ich es übernommen, diese Beobachtungen weiter zu führen, um, wenn möglich, die Natur der aus dem Harn ausgefällten Benzoylverbindungen genauer zu ermitteln.

Ich habe mich zunächst überzeugt, dass die verschiedensten Kohlehydrate aus verdünnten wässerigen Lösungen beim Schütteln mit Benzoylchlorid (im Ueberschuss) und der zur Neutralisation erforderlichen Menge Natronlauge zwar stets reichliche Niederschläge der unlöslichen Benzoylverbindungen liefern, aber nie die gesammte Menge des Kohlehydrates ausgefällt wird. Die von den unlöslichen Benzoesäureestern abfiltrirte Flüssigkeit gibt bei erneuter Behandlung mit Benzoylchlorid und Natronlauge stets noch eine zweite, wenn auch erheblich geringere Fällung derselben Verbindungen. Durch diese zweite Behandlung werden die Kohlehydrate — verdünnte, weniger als 1 Procent enthaltende Lösungen vorausgesetzt — so gut wie vollständig abgeschieden.

Zur Abscheidung der Kohlehydrate aus dem Harn verfährt man am besten in folgender Weise: Der frische Harn wird mit wenig Natronlauge versetzt und von den ausgeschiedenen Phosphaten abfiltrirt. Zu dem Filtrate wurden auf 100 cbcm. des Harns weitere 25—40 cbcm. Natronlauge von 10—12 Procent und zugleich 3—5 cbcm. Benzoylchlorid hinzugefügt. Diese Mischung wurde alsbald so lange geschüttelt, bis der Geruch des Benzoylchlorids verschwunden war. Die Menge der zu verwendenden Natronlauge ist immer abhängig von der Menge des Benzoylchlorids; man hat dabei zu beachten, dass nach Beendigung der Einwirkung die

---

[1]) D. Chem. Ges, Bd. 19, S. 3218.

Reaction der Flüssigkeit stets alkalisch sei. Während des Schüttelns wurde das Gefäss mit kaltem Wasser gekühlt.

Der hierbei gebildete Niederschlag stellte ein schwach gelbliches, undeutlich krystallinisches Pulver dar, das bis zum Verschwinden der alkalischen Reaction auf dem Filter ausgewaschen wurde. Setzt man das Auswaschen länger fort, so zeigt sich meist nach einiger Zeit eine schwach saure Reaction. Diese kann durch Spuren von Benzoylchlorid, welche in dem Niederschlage eingeschlossen waren, bedingt sein, oder von einer beginnenden Zersetzung herrühren.

Die über Schwefelsäure getrocknete Substanz beginnt bei 40° zu erweichen, schmilzt aber erst über 60°.

Die Menge der Benzoylverbindungen, welche aus dem Harn gewonnen werden können, ist bei verschiedenen Personen ungleich; ausserdem wechselt sie aber auch bei ein und demselben Individuum, nach Tageszeit und anderen Bedingungen erheblich. Die Ausbeute an den genannten Benzoylverbindungen betrug bei einer grösseren Zahl von Bestimmungen zwischen 0,138 und 1,309 gr. auf 100 cbcm. Harn berechnet.

Die Benzoylverbindungen aus dem Harn enthalten nachweisbare Spuren von Stickstoff; ein Versuch, den Stickstoff quantitativ zu bestimmen, musste aber wegen der allzu geringen Menge desselben aufgegeben werden. Dagegen zeigt das aus verschiedenen Harnen abgeschiedene Gemenge von Benzoylverbindungen eine grosse Uebereinstimmung im Kohlenstoff- und Wasserstoffgehalt. Das Mittel mehrerer Analysen ergab folgende Werthe:

C	66,82 %
H	5,51 »

Es schien zunächst von Interesse, zu vergleichen, in welchem Verhältnisse die Zusammensetzung der aus verschiedenen Kohlehydraten gewonnenen Benzoylverbindungen zu den aus dem Harn abgeschiedenen Substanzen steht. Zu diesem Zwecke wurden die Benzoylverbindungen des Glycogens und Dextrins, unter Beobachtung der früher angegebenen Bedingungen, dargestellt und untersucht.

Das benzoylirte Glycogen stellte ein weisses körniges Pulver dar, bei dessen Analyse die Werthe:

C	65,99 %
H	5,45 »

gefunden wurden.

Die aus einem Dextrin des Handels dargestellten Benzoylverbindungen ergaben bei der Analyse:

C	64,16 %
H	4,63 »

Die unter denselben Bedingungen gebildeten Benzoylverbindungen des Traubenzuckers besassen nach Baumann[1]) die Zusammensetzung:

C	68,82 %
H	4,95 »

Baumann[2]) hat früher darauf hingewiesen, dass bei der Benzoylirung der Kohlehydrate in wässerigen Lösungen stets Gemenge mehrerer Benzoesäureester erhalten werden. Es lassen sich deshalb aus den mitgetheilten Analysen noch nicht bestimmte Schlüsse auf die eine oder andere Benzoylverbindung eines bestimmten Kohlehydrates machen. Doch ist zu erkennen, dass die Zusammensetzung der Benzoylverbindungen aus dem Harn[3]) zwischen den Werthen der Benzoesäureester eines Kohlehydrates der Traubenzuckergruppe und denjenigen eines Kohlehydrates der Stärkegruppe liegt.

Auf einem anderen Wege gelang es, festzustellen, dass diese Benzoylverbindungen die Benzoesäureester von 2 Kohlehydraten enthalten, von welchen das eine wie ein Dextrin sich verhält, das andere die Reactionen des Traubenzuckers zeigt.

Vorläufige Versuche hatten ergeben, dass die Benzoylverbindungen des Dextrins und des Glycogens beim Kochen mit Natronlauge verhältnissmässig leicht verseift werden, während die Benzoesäureester des Traubenzuckers von Natron-

---

1) L. c.

2) L. c.

3) Dass diese Benzoylverbindungen aus dem Harn die Furfurolreactionen der Kohlehydrate liefern, hat kürzlich L. v. Udránszky gezeigt; diese Zeitschr., Bd. 12, S. 379.

lauge auch nach längerer Zeit so gut wie gar nicht angegriffen werden. Als 2 gr. der aus dem Harn gewonnenen Substanz mit 200 cbcm. Natronlauge auf dem Wasserbade 3 Stunden lang erhitzt wurden, trat allmälig eine Zersetzung ein, welche aber unvollständig blieb. Ein Theil der Substanz ging in die Lösung, welche sich dabei mehr und mehr röthlich braun färbte. Ein anderer Theil der Substanz wurde selbst bei lange fortgesetztem weiteren Kochen mit Natronlauge nicht mehr verändert.

Dieser in Wasser und Natronlauge unlösliche Rückstand löste sich in Alkohol leicht auf. Die alkoholische Lösung reducirte nach Zusatz von Natronlauge Fehling'sche Lösung. Beim Erhitzen dieser Lösung oder der in Wasser vertheilten Substanz mit verdünnter Schwefelsäure wird allmälig Benzoesäure abgespalten, welche durch Schütteln mit Aether der Flüssigkeit entzogen werden kann; in der wässerigen Lösung bleibt ein Kohlehydrat zurück, welches die gewöhnlichen Reactionen des Traubenzuckers gegen alkalische Kupfer- oder Wismutlösung, wie gegen Alkalien beim Kochen zeigte. Diese Lösung gab auch beim Schütteln mit Benzoylchlorid und Natronlauge wieder eine Abscheidung von unlöslichen Benzoesäureestern.

Dieselbe Beständigkeit gegen Alkalien, und die verhältnissmässig leichte Verseifbarkeit durch Säuren zeigten, zum Unterschiede von anderen Kohlehydraten, die aus reinem Traubenzucker unter den früher angegebenen Bedingungen dargestellten Benzoylverbindungen.

In der bei der Verseifung der Benzoylverbindungen des Harns mit Natronlauge gewonnenen gefärbten Lösung lässt sich ein dextrinartiger Körper nachweisen, welcher auf Fehling's Lösung direct nicht einwirkte. Wird aber diese Lösung mit Schwefelsäure übersättigt und einige Zeit auf dem Wasserbade erwärmt, so reducirt sie die alkalische Kupferlösung reichlich. Dieser dextrinartige Körper gibt mit Kupfersulfatlösung einen blauen, flockigen Niederschlag. Wird dieser Niederschlag ausgewaschen und getrocknet, hierauf in wenig starker Salzsäure gelöst und alsbald Alkohol hinzugefügt, so

fällt das Kohlehydrat in Form eines flockigen Niederschlages — besonders leicht beim Erwärmen auf 60° — aus. In dieser Beziehung stimmt der aus der Benzoylverbindung des Harns gewonnene Körper ganz mit dem thierischen Gummi Landwehr's überein.

Aeussere Verhältnisse hinderten mich, über die Kohlehydrate des normalen Harns selbst weitere Erfahrungen zu gewinnen. Es ist nicht zu verkennen, dass die hier mitgetheilten Beobachtungen einer weiteren Ausführung nach mehreren Seiten hin bedürfen, besonders wird eine genauere Untersuchung der benzoylirten Kohlehydrate für die in Betracht zu ziehenden Verhältnisse erforderlich sein. Trotz der Unvollständigkeit meiner Versuche mag doch die Publication der von mir erhaltenen Resultate insofern von Interesse sein, als durch dieselben die Anwendbarkeit einer Methode zur Isolirung und Trennung verschiedener Kohlehydrate im Harn dargethan wird, und der Nachweis geführt wurde, dass im normalen Harn stets zwei Kohlehydrate enthalten sind, von welchen das eine Fehling's Lösung unmittelbar reducirt und wie Traubenzucker (oder Maltose) sich verhält; das zweite Kohlehydrat des Harns zeigt die Eigenschaften eines dextrinartigen Körpers und ist wahrscheinlich identisch mit dem thierischen Gummi Landwehr's.

Anmerkung. Die vorstehenden Versuche sind im Sommer 1887 in meinem Laboratorium ausgeführt worden. Ich habe an dem Manuscripte des Herrn Dr. Wedenski, das mir verspätet zur Umarbeitung für den Druck zuging, so wenig als möglich geändert, und nur einige kleine erläuternde Zusätze eingeschaltet. — Seitdem ist die Untersuchung über die Kohlehydrate des Harns von Herrn Dr. L. v. Udránszky, welcher über einen Theil seiner Ergebnisse schon berichtet hat (diese Zeitschr., Bd. 12, S. 372) nach mehreren Richtungen weitergeführt worden.

Freiburg i. B., im Juni 1888.

E. Baumann.

Ueber den Einfluss des Aethylalkohols auf den Stoffwechsel des Menschen.

Von

Dr. H. Keller, Rheinfelden.

(Aus dem Laboratorium des Professor Bunge in Basel.)
(Der Redaction zugegangen am 24. Juni 1888.)

Die vielfachen Untersuchungen, welche über den Einfluss des Alkohols auf den Stoffwechsel, insbesondere auf den Eiweisszerfall, ausgeführt worden sind, haben keine übereinstimmenden Resultate ergeben.

Die genauesten sind die von Munk[1]) am Hunde ausgeführten Untersuchungen. Die bisherigen Versuche am Menschen konnten keine unzweideutigen Resultate ergeben, weil bei denselben die Nahrung keine ganz gleichmässige war.

Deshalb erschien es mir wünschenswerth, auch am Menschen einen Stoffwechselversuch bei vollkommen gleicher Nahrung durchzuführen.

Insbesondere war es mir darum zu thun, die neueren Angaben über die Vermehrung der Phosphorsäureausscheidung[2]) nach Alkoholzufuhr zu controlliren. Zugleich richtete ich meine Aufmerksamkeit auf die Chlorausscheidung und stellte mir die Frage, ob das gesteigerte Kochsalzbedürfniss in Folge von Alkoholgenuss vielleicht durch eine Kochsalz entziehende Wirkung des Alkohols erklärt werden könnte.

Ich habe den Versuch an mir selbst vorgenommen. Die Versuchszeit dauerte 7 Tage. Die Lebensweise wurde in folgender Weise geregelt.

---

1) J. Munk, Arch. f. Physiol., Jahrg. 1879, S. 163.

2) Romeyn, Onderzoekingen over den invloed van alkohol op den mensch, Amsterdam 1887.

Die tägliche Nahrung bestand in:

500 gr. gehacktem Fleisch,
500 gr. Schrotbrod,
100 gr. Butter,
1500 cbcm. Quellwasser,
2 gr. Kochsalz.

Zu Beginn der Versuchszeit wurden ca. 3750 gr. Ochsenfleisch vom Musc. ileopsoas abgewogen, fein zerhackt und gleichmässig durchgemischt. Dann wurden für jeden Versuchstag 500 gr. Fleisch genau abgewogen und in die Kälte gestellt bis zum Verbrauche. Ebenso wurde ein grosses Brod von ca. 3700 gr. gebacken, dasselbe an kühlem Orte aufbewahrt und davon die tägliche Portion von 500 gr. abgewogen.

Ein Versuchstag dauerte von Morgens 9^h bis zum andern Morgen 9^h.

Schlags 9^h wurde der letzte Harn gelassen und dann die erste Mahlzeit genommen.

Die tägliche Fleischration wurde am Morgen in 3 Portionen getheilt; ebenso die Butter; das Brod wurde zu den Mahlzeiten genossen je nach Bedürfniss. 9^h Morgens wurde das Frühstück, 1^h das Mittagessen und 7^h das Nachtessen eingenommen. Das Salz wurde gleichmässig mit dem Fleisch gemischt; die Butter war ungesalzen. Das Wasser der constant bleibenden Quelle wurde in einer Tagesration geholt und in circa 3 gleichen Theilen zu den Mahlzeiten getrunken.

Der Harn wurde von jedem Versuchstag in gut verschlossenen Flaschen gesammelt und aufbewahrt und nach Durchmischung die Menge genau bestimmt.

Die Bestimmung des Körpergewichtes geschah zu Ende eines Versuchstages.

Jeweilen vor dem Mittagessen und Abendessen wurde ein Spaziergang von je $1^1/_2$ Stunde gemacht. Während der ganzen Versuchszeit herrschte eine Temperatur von 8—12° C. unter dem Eispunkt.

Bei der Analyse des Harnes wurden alle Bestimmungen mehrfach ausgeführt und von 2—3 gut übereinstimmenden

Resultaten das arithmetische Mittel genommen. Einige Bestimmungen wurden von Herrn Professor Bunge zur Controlle ausgeführt.

Das Kochsalz stammt aus der Rheinfeldner Saline und ist relativ rein; es enthält 98,8 % NaCl. Es wurde in einer kleinen Dosis genommen, um die event. Zunahme der NaCl-Ausscheidung in Folge des Alkoholgenusses möglichst deutlich hervortreten zu lassen. Am 4. Versuchstage wurden 150 cbcm. reinen 96procentigen Aethylalkohols mit den 1500 cbcm. Wasser gemischt zu den 3 Mahlzeiten getrunken.

Das Ergebniss des Versuches überblickt man auf den folgenden Tabellen.

Die Harnanalysen wurden nach folgenden Methoden ausgeführt:

1. Chlorbestimmung.

100 cbcm. des Harnes werden mit kohlensaurem Natron in der Platinschale eingedampft, dann zuerst langsam, hierauf stärker bis zur Dunkelrothgluth erhitzt, mit heissem Wasser ausgezogen und filtrirt. Das Filter wird hierauf in die Platinschale zurückgebracht, verkohlt und geglüht, um event. vom ersten Glühen noch vorhandene Kohlenbestandtheile zu verbrennen und die daran haftenden Chloride zu gewinnen. Die Filterasche wird mit heissem Wasser unter Zusatz von etwas HNO_3 ausgezogen, nochmals filtrirt und mit dem ersten Wasserauszug vereinigt.

Um das überschüssige Na_2CO_3 zu neutraiisiren, wird noch HNO_3 hinzugefügt und darauf mit $AgNO_3$ gefällt.

Dabei wurden folgende Resultate gefunden:

Tag	Volumen cbcm.	100 cbcm. Urin		Totalmenge	
		AgCl	Cl	Cl	Cl
I. Tag	1746	0,9064 0,9081	0,22423 0,22463	3,9150 3,9220	3,919
II. »	1317	0,5680 0,5667	0,14051 0,14019	1,8505 1,8463	1,848
III. »	1246	0,4769 0,4700	0,11797 0,11627	1,4699 1,4487	1,459

Fortsetzung der Tabelle auf Seite 130.

Tag	Volumen cbcm.	100 cbcm. Urin		Totalmenge	
		AgCl	Cl	Cl	Cl
IV. Tag	1720	0,4525 0,4549	0,11194 0,11253	1,9248 1,9355	1,930
V. »	880	0,6385 0,6528	0,15795 0,16149	1,3900 1,4211	1,416
VI. »	987	0,4831 0,5000	0,11951 0,12369	1,1796 1,2208	1,200
VII. »	1080	0,5537 0,5250	0,13698 0,12986	1,4795 1,4025	1,441

2. Schwefelsäurebestimmung.

Bei der Bestimmung derselben wurde die Gesammtmenge der gepaarten und einfachen H_2SO_4 durch Kochen von 100 cbcm. Harn mit HCl und Fällen mit $BaCl_2$ etc. ausgemittelt und als SO_3 berechnet mit folgenden Resultaten:

Tag	Volumen	100 cbcm. Urin $BaSO_4$		100 cbcm. SO_3	Total SO_3
I. Tag	1746	0,56983 0,56423	0,56703	0,19469	3,399
II. »	1317	0,72342 0,71646	0,71994	0,24719	3,256
III. »	1246	0,77443 0,77366	0,77404	0,26576	3,311
IV. »	1720	0,57053 0,56993	0,57023	0,19579	3,368
V. »	880	1,16066 1,15226	0,15646	0,39706	3,494
VI. »	987	0,98546 0,97586	0,98066	0,33670	3,323
VII. »	1080	0,93183 0,93323	0,93253	0,32018	3,457

3. Die Phosphorsäurebestimmung.

Zur Bestimmung der Phosphorsäure wurden 100 cbcm. Urin mit Na_2CO_3 in der Platinschale eingedampft und eingeäschert. Die HCl-Lösung der gesammten Asche wurde mit essigs. Ammon. und oxals. Ammon. zur Ausfällung des Kalkes versetzt. Aus dem mit Ammoniak übersättigten Filtrat wird mit Magnesiamixtur die H_3PO_4 gefällt etc. und als P_2O_5 berechnet.

Hierbei wurden folgende Resultate gewonnen:

Tag	24 stündiges Harn-Volumen	100 cbcm. Harn gaben: $Mg_2P_2O_7$	P_2O_5	Bestimmung von Prof. Bunge $Mg_2P_2O_7$	Total P_2O_5	
I. Tag	1746	0,26243 0,26823	0,16795 0,17067	—	2,9324 2,9799	2,956
II. »	1317	0,38394 0,38773	0,24567 0,24800	—	3,2947 3,2662	3,280
III. »	1246	0,41253	0,26387	0,4167 0,4158	3,2878	3,288
IV. »	1720	0,30233 0,3063	0,19338 0,19592	0,3072	3,3261 3,3698	3,348
V. »	880	0,50886 0,51824	0,32545 0,33148	—	2,8640 2,9170	2,891
VI. »	987	0,42686 0,42716	0,27303 0,27322	—	2,6948 2,6967	2,696
VII. »	1080	0,44824 0,45266	0,28671 0,28954	—	3,0965 3,1270	3,112

4. Die Stickstoffbestimmung.

Sie wurde nach Schneider-Seegen ausgeführt. Zu jeder Bestimmung wurden 5 cbcm. Harn verwendet und folgende Resultate gefunden vermittelst Normalschwefelsäure und titrirter Natronlösung:

Tag	Volumen	Gesättigt cbcm.	N in 5 cbcm.	N Total	N Mittel
I. Tag	1746	4,3 4,25	0,0602 0,0595	21,02 20,78	20,9
II. »	1317	5,95 6,0	0,0833 0,0840	21,94 22,13	22,0
III. »	1246	6,35 6,4	0,0889 0,0896	22,15 22,33	22,2
IV. »	1720	4,35 4,3	0,0609 0,0602	20,95 20,71	20,8
V. »	880	9,35 9,4	0,1309 0,1316	23,04 23,16	23,1
VI. »	987	8,35 8,35	0,1169 0,1169	23,08 23,08	23,1
VII. »	1080	7,6 7,65	0,1071 0,1064	23,13 22,98	23,1

Das Gesammtresultat überblickt man auf der folgenden Tabelle:

Versuchstag	Datum	Harnvolumen	Körpergewicht	Cl	P_2O_5	SO_3	N	Bemerkungen.
I. Tag	24./25.Dec.	1746	62800	3,919	2,956	3,399	20,9	
II. »	25./26. »	1317	—	1,848	3,280	3,255	22,0	
III. »	26./27. »	1246	62250	1,459	3,288	3,311	22,2	
IV. »	27./28. »	1720	62250	1,930	3,348	3,368	20,8	150 cbcm. Alkohol
V. »	28./29. »	880	61400	1,416	2,891	3,494	23,1	
VI. »	29./30. »	987	61850	1,200	2,696	3,323	23,1	
VII. »	30./31. »	1080	61905	1,441	3,112	3,458	23,1	

Es ist daraus Folgendes ersichtlich:

1. Eine erhebliche diuretische Wirkung am Alkoholtage, übereinstimmend mit allen Autoren, besonders mit Dr. K. B. Lehmann[1]).

2. Eine geringe Verminderung der Stickstoffausscheidung am Alkoholtage, was mit Munk's Beobachtung an Hunden bei Verabreichung von kleineren Gaben übereinstimmt.

Diese Verminderung der N-Ausscheidung wäre vielleicht aus einer durch den Alkohol bewirkten Störung der Verdauung und Resorption zu erklären, was mit den Versuchen von Kretschy[2]), Wilh. Buchner[3]) und anderen Autoren im Einklang stehen würde.

An dem dem Alkoholtage folgenden Tage zeigt sich eine leichte Vermehrung der N-Ausscheidung, was aus einer nachträglichen Resorption erklärt werden könnte.

3. Die Angabe über vermehrte H_3PO_4-Ausscheidung[4]) kann ich nicht mit Sicherheit bestätigen, wenn auch eine leichte Schwankung der Werthe vorhanden ist. Es ist jedoch

---

[1]) Münchner medicin. Wochenschrift, No. 51, Jahrg. 1886, und No. 23, Jahrg. 1887.

[2]) Deutsches Archiv f. klin. Med., Bd. XVIII, S. 527, Jahrg. 1876.

[3]) Wilh. Buchner, ebendaselbst, Bd. XXIX, S. 537, Jahrg. 1881.

[4]) Romeyn, l. c.

zu berücksichtigen, dass die Versuche Romeyn's unter ganz anderen Bedingungen angestellt worden sind, nämlich an hungernden Menschen. Die Resultate dieser Versuche verlieren dadurch sehr an Werth, dass die Versuchsdauer eine sehr kurze war.

4. Die Chlorausscheidung ist nicht unbedeutend vermehrt. Diese Vermehrung hängt vielleicht mit der diuretischen Wirkung des Alkohols zusammen.

Studien über die analytische Bestimmungsweise der Eiweisskörper mit besonderer Rücksicht auf die Milch[1].

Von

John Sebelien.

(Der Redaction zugegangen am 11. Juli 1888.)

1. Fällungsmittel für Eiweisskörper im Allgemeinen.

In einer früheren Arbeit[2]) habe ich zwei verschiedene Eiweisskörper, welche sich neben dem Kasein in der Milch befinden, isolirt und deren Existenz nachgewiesen. Bei den jetzt zu beschreibenden Untersuchungen habe ich gesucht, die wichtigsten der vorhandenen Methoden für quantitative Eiweissbestimmungen einer experimental-kritischen Prüfung zu unterziehen, und daneben versucht, eine leichte und brauchbare Methode für die genaue Trennung der verschiedenen Eiweisskörper der Milch zu erhalten.

Für die Bestimmung der Totaleiweissmenge ist eine grosse Anzahl Methoden vorgeschlagen, wovon jedoch mehrere auf nicht hinreichend gründlich untersuchter Basis ruhen. Bei der vorliegenden Arbeit habe ich mich besonders bemüht, theils die Vollständigkeit der Fällungsmethoden für verschiedene Eiweisskörper in reinem Zustande, d. h. frei sowohl von anderen Eiweisssubstanzen, wie von sonstigen fremden stickstoffhaltigen Bestandtheilen zu prüfen, theils zu untersuchen, in wiefern die Gegenwart des einen Eiweiss-

---

1) Nach dem dänischen Original in «Oversigt af det kgl. danske Videnskabernes Selskabs Forhandlinger, 1888».

2) Diese Zeitschrift, 1885, Bd. IX, S. 445.

körpers die Fällung des anderen beeinflusst. Es lässt sich ja nämlich der Fall denken, dass die eine Eiweisssubstanz die vollständige Ausfällung der anderen hindern kann, oder auch, dass erstere selbst mit niedergerissen wird, wenn sie sich mit der anderen in einer Lösung zusammen befindet.

Nur in einzelnen Fällen habe ich das Gewicht des ausgeschiedenen Niederschlages und dessen mehr oder weniger constante Zusammensetzung bestimmt, denn es scheint mit hinreichender Deutlichkeit hervorzugehen sowohl aus den Untersuchungen Anderer, wie aus meinen eigenen Versuchen über den betreffenden Gegenstand, dass die Verbindungen, welche die Eiweisskörper mit ihren Fällungsmitteln eingehen, von gar zu variabler Zusammensetzung sind, als dass dieselbe als Grundlage für eine quantitative Bestimmungsmethode dienen kann. Auch möge es nach der Bequemlichkeit, womit man heutzutage nach Kjeldahl's Methode Stickstoffbestimmungen in grosser Anzahl und mit grosser Genauigkeit vornehmen kann, vortheilhaft sein, für die quantitative Bestimmung eines eiweisshaltigen Niederschlages, die Menge des Eiweisskörpers hierin mittelst einer in dem ungewogenen Niederschlage vorgenommenen Stickstoffbestimmung zu berechnen. Insofern es sich um das Kasein und Albumin der Milch handelt, kann man mit grosser Sicherheit deren Stickstoffgehalt zu 15,7 % setzen, wodurch der entsprechende «Factor» 6,37 wird. Berechnet man in dieser Weise die Eiweissmenge aus dem «eiweissartigen Stickstoff», umgeht man also die vielen unbequemen und zeitraubenden Wägungen der Filtren und Niederschläge, sowie auch das oft langwierige Trocknen derselben.

Als Untersuchungsmaterial wurden verwendet theils Lösungen von reinem Kasein, welches 3 mal mit Essigsäure nach Hammarsten's[1]) Methode gefällt war, darauf in Minimum von Alkali gelöst und endlich mit einigen Tropfen einer verdünnten Chlorcalciumlösung und einigen Tropfen einer ebenfalls verdünnten Lösung von phosphorsaurem Natron vor-

---

[1]) Beiträge z. Kenntniss des Kaseins u. d. Wirkung des Labfermentes. Upsala 1877.

sichtig vermischt, um das Kasein unter ähnlichen Verhältnissen zu erhalten (als «Kaseincalciumphosphat») als es in der Milch vorkömmt; — theils Lösungen von Laktalbumin in solcher Weise dargestellt, wie ich es früher[1]) beschrieben habe; — theils Lösungen von reinem Ovalbumin, welches aus verdünntem und neutralisirtem Hühnereiweiss dargestellt wurde, indem letzteres erst durch Sättigung mit Magnesiumsulfat von Globulinsubstanzen befreit wurde, darauf das Filtrat mit Essigsäure gefällt und der Niederschlag in gleicher Weise wie das Laktalbumin behandelt (Filtriren und Abpressen, Lösung in wenig Wasser, Neutralisirung mit Natronlauge und Dialyse).

Es wäre vielleicht Ursache gewesen, die Peptone mehr gründlich in das Bereich dieser Untersuchungen hineinzuziehen, als jetzt geschehen ist; so lange aber der Begriff dieser Körper noch nicht als unbestreitsbar festgeschlagen zu betrachten ist, weder in Beziehung auf deren elementare Zusammensetzung, noch auf deren Eigenschaften, möchte es zweckmässig scheinen, die fernere Behandlung von dem analytischen Verhalten der Peptonsubstanzen aufzuschieben, bis mehr Einigkeit darüber gewonnen ist, was eigentlich unter «Peptone» zu verstehen ist. Vergleichshalber habe ich jedoch ein paar einzelne Versuche mitgenommen, welche mit verschiedenen Präparaten, durch Pepsindigestion von Eiweisskörpern (theils Kasein, theils Ovalbumin) erhalten, angestellt sind.

Wo es sich um die Bestimmung der gesammten Eiweissmenge der Milch handelt, wird unsere Aufmerksamkeit in erster Reihe auf die Lösungen schwerer Metallsalze, Gerbsäure und Phosphorwolframsäure als die meist brauchbaren Fällungsmittel, hingeleitet. Sie gehören zu den feinsten Eiweissreagentien, und es schien daher der Mühe werth, zu untersuchen, wie vollständig ihre fällenden Eigenschaften sind.

Ritthausen schlug vor[2]), die totale Eiweissmenge auszufällen durch Zusatz einer Lösung von Kupfersulfat zur verdünnten Milch und darauf von so viel Alkalilauge, als die Mischung vertragen kann, ohne alkalisch zu werden. Der

---

[1]) A. a. O., S. 454.

[2]) Journal für praktische Chemie [2], Bd. 15, S. 329.

durch Decantation gewaschene Niederschlag wird auf ein gewogenes Filtrum gesammelt, wonach das Fett mittelst Aether entfernt wird. Der trockne Rückstand wird darauf gewogen und geglüht und der Gewichtsverlust als Eiweisssubstanz berechnet.

Ritthausen überzeugte sich, dass die Filtrate von solchen Fällungen so gut wie stickstofffrei waren, denn sie enthielten durchschnittlich nur 0,02 % Stickstoff. Die Fällung war also als vollständig zu betrachten.

Die Methode ist jedoch mit dem Fehler behaftet, dass das Kupferoxydhydrat, welches mit den Eiweisskörpern gemeinsam ausfällt, nicht alles Hydratwasser beim Trocknen bei 125° C., sondern erst beim Glühen abgiebt, wodurch das Hydratwasser also mit zur Eiweisssubstanz gerechnet wird.

Stenberg[1]) hat diesen Fehler nachgewiesen; er fand aber auch, dass die Methode nichtsdestoweniger gute Resultate liefert, wenn die zur Analyse verwendete Milchmenge wenigstens 0,6 gr. Eiweisssubstanz enthält und das Verhältniss zwischen der angewendeten Kupferoxydmenge und der Eiweisssubstanz nicht ausserhalb der Grenzen $^1/_3$—$^1/_{3,5}$ variirt. Hierbei wird aber alsdann gefordert, dass die zu bestimmende Eiweissmenge im Voraus ungefähr bekannt ist; ausserdem hat die Methode die Misslichkeit, dass man bei den Filterwägungen, die hier bei ziemlich hohen Temperaturen vorzunehmen sind, schwerlich constantes Gewicht erhält.

Sieht man davon ab, dass man mit dem Alkalizusatz etwas vorsichtig verfahren muss, um dass nicht ein Ueberschuss hiervon die ausgeschiedene Eiweisssubstanz wieder auflösen soll, welche Vorsicht übrigens ganz leicht einzuhalten ist[2]), so geschieht die Bildung und das Absetzen des Niederschlages so schnell und vollständig, dass die Methode sehr geeignet ist, selbst für grössere Serienuntersuchungen mit vielen Analysen, so wie es bei Arbeiten mit praktisch physiologischem oder technischem Zwecke oft der Fall ist. Es wird aber auch

---

1) Nordiskt medicinskt Arkiv, 1882.

2) Jeder cbcm. Kupferlösung (69,278 gr. krystallisirtes Sulfat = 1000 cbcm.) fordert ca. 4 cbcm. $^1/_{10}$ norm. Natronlauge, um neutrale Reaction zu geben.

dann, aus den obengenannten Gründen, vortheilhaft sein, anstatt den Niederschlag zu wägen, eine Stickstoffbestimmung auf demselben vorzunehmen, wobei es also auch unnöthig wird, den Niederschlag zu trocknen oder zu entfetten[1]).

Es folgen unten einige Beispiele solcher Bestimmungen, wo die Stickstoffbestimmung, sowie überhaupt sämmtliche Stickstoffbestimmungen dieser Arbeit nach Kjeldahl's unveränderter Methode[2]) vorgenommen wurde, doch so, dass das Ammoniak in $^1/_{10}$ oder $^1/_{20}$ norm. Schwefelsäure aufgefangen wurde und dann entweder mit $^1/_{10}$ norm. Natron- oder $^1/_{10}$ norm. Barytlauge titrirt wurde, unter Verwendung von Lakmus oder Rosolsäure als Indicator. Die Stickstoffmenge des Filtrums wurde mehrere mal besonders bestimmt und machte für die von mir verwendeten Filtren 0,1 cbcm. $^1/_{10}$ norm. N pr. Stück aus, welche Correction in allen Analysen eingeführt ist.

1. Lösung von reinem Kasein mit Calciumphosphat (Kaseincalciumphosphat).

10 cbcm. gab 15,8 cbcm. $^1/_{10}$ norm. N = 0,02212 gr., ɔ: **0,22**% N.

10 cbcm. mit 4 Volumen Wasser verdünnt, darauf mit Kupfersulfat und Natronlauge bis beinahe neutrale Reaction gefällt. — Der Niederschlag gab 15,7 cbcm. $^1/_{10}$ norm. N = 0,02198 gr., ɔ: **0,220**% N.

Das Filtrat wurde in einem Kjeldahl'schen Kölbchen eingedunstet und in gewöhnlicher Weise behandelt, zeigte sich aber absolut stickstofffrei.

2. Reines Kasein, in Kalkwasser gelöst, mit Phosphorsäure neutralisirt.

4,977 gr. Lösung enthielt 8,7 cbcm. $^1/_{10}$ norm. N = 0,01218 gr., ɔ: **0,245**% N.

4,925 gr. Lösung wurde mit ein paar Tropfen Kupferlösung versetzt, darauf titrirter Natronlauge bis zur Entfärbung der Lösung. — Der Niederschlag enthielt 8,6 cbcm. $^1/_{10}$ norm. N = 0,01204 gr., ɔ: **0,244**% N.

---

1) Für die Fettbestimmung wird es sich gewöhnlich lohnen, diese in einer besonderen Portion nach den von mir früher beschriebenen Storch'schen Regeln (Landwirthschaftl. Versuchs-Stationen, Bd. XXXIII S. 395) vorzunehmen; die Extraction des Fettes geschieht hierbei sowohl schneller wie vollständiger, besonders in magerer Milch.

2) Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, II. Bd., S. 1. — Zeitschrift für analytische Chemie.

Das Filtrat nahm beim Eindunsten eine blaugrüne Farbe von Kupfersalz an, zeigte sich aber ganz stickstofffrei.

Von anderen Metallsalzen hat Storch[1]) basisches Bleiacetat zur Fällung der Eiweisskörper der Milch angewendet, doch so, dass die Hauptmasse der Eiweisskörper erst mit Alkohol gefällt wurde. Dasselbe Fällungsmittel ist auch neulich von E. Gottlieb[2]) zur Bestimmung der Eiweisskörper in Rüben benutzt worden. Die Vollständigkeit der Ausfällungen, die mit diesem Reagense zu erhalten sind, ist doch sehr gering, wovon ich mich mehrere mal mit Eiweisslösungen verschiedener Art überzeugt habe. Es lässt sich rein qualitativ nachweisen, dass während ein Tropfen des Fällungsmittels einen grossen voluminösen Niederschlag erzeugen kann, so kann dieser wieder durch einen Ueberschuss von 1—2 Tropfen vollständig oder fast zum Verschwinden gebracht werden. In den unten zu besprechenden quantitativen Versuchen, wo das Filtrat durch Prüfung mit einem Tropfen Bleiessig keine weitere Fällung hervorbrachte, und es also nicht an Fällungsmittel fehlte, verblieb ca. die Hälfte bis zum dritten Theil der ganzen Stickstoffmenge ungefällt. In der Weise verwendet, wie Storch es bei seiner Methode thut, wo nur kleine Mengen zu bestimmen sind, wird doch dieser Fehler, auf der ganzen Milchmenge berechnet, kaum eine praktische Bedeutung bekommen, welches sich auch dadurch zeigt, dass die Stickstoffmenge der Milch, welche nach Ausfällung der gesammten Eiweisssubstanz übrig bleibt, keiner besonders in die Augen fallenden Variation unterworfen ist, ob man diese Ausfällung nach Storch's Vorschrift oder nach anderen Methoden vornimmt.

Von grösserer Bedeutung wird der Fehler werden, welcher entsteht, wenn man die ganze Differenz zwischen dem Gewichte des Bleiniederschlages und dessen Glühungsrückstand als Eiweisssubstanz berechnet. Nach der Natur des betreffenden Fällungsmittels lässt es sich nämlich erwarten,

---

[1]) Storch, Mikroskopiske og kemiske Undersögelser over Smördannelsen ved Kärning. Kjöbenhavn 1883.

[2]) Thomsens Tidsskrift for Fysik og Kemi (dänisch). 1887. S. 225.

dass der Bleiniederschlag ausser Eiweisssubstanz und feuerfeste Bestandtheile auch noch etwas Essigsäure, Wasser und Kohlensäure in variabler Menge enthalten wird, und diese Bestandtheile werden alsdann als Eiweisssubstanz mitgerechnet.

3. Lösung von reinem Kasein.

9,860 gr. Lösung hinterliess beim Eintrocknen bei 110° C. 0,094 gr. aschenfreies Kasein, woraus sich 0,154 % N in der Lösung berechnen lässt.

5,137 gr. Lösung gab 5,6 cbcm. 1/10 norm. N = 0,00784 gr., ɔ: 0,152 % N.

9,864 gr. Lösung wurde mit 8 Tropfen Bleiessig gefällt; hierdurch entstand

0,129 gr. Fällung,
worin 0,051 gr. Asche,
also 0,078 gr. verglühbare Substanz,

ɔ: 0,791 %. Wird dies alles als Eiweissubstanz berechnet, erhält man 0,124 % N.

Das Filtrat ergab nach Eindampfen 5,2 cbcm. 1/10 norm. N = 0,00728 gr., ɔ: 0,07 % N.

Die Summe ist also 0,194 % N oder 0,04 % zu hoch.

4. Lösung von reinem Ovalbumin.

10,00 gr. Lösung enthielt 18,0 cbcm. 1/10 norm. N = 0,0252 gr., ɔ: 0,252 %.

10,00 gr. Lösung wurden mit 7 Tropfen Bleiessig gefällt, wodurch entstanden

0,178 gr. Fällung,
hierin 0,051 gr. Asche,
also 0,127 gr. verbrennbare Substanz,

welche, als Eiweisssubstanz berechnet, 0,199 % entspricht.

Das Filtrat enthielt 6,3 cbcm. 1/10 norm. N = 0,00882 gr., ɔ: 0,082 % N.

Die Summe ist hier 0,287 % N oder 0,035 % zu hoch.

Die folgenden beiden Präparate sind durch Fällen mit Bleiessig dargestellt, und zwar theils aus Milch (5), theils aus dem Filtrate von Milch, welche nach Storch mit dem gleichgrossen Volum Alkohol von 92° Tr. gefällt ist, darauf zum Entfernen des Alkohols auf dem Wasserbade eingedunstet, und wiederum von etwas coagulirtem Albumin abfiltrirt (6). Die Bleifällungen sind nach vollständigem Auswaschen, Trocknen und Extraction mit Aether, um das Fett zu entfernen, auf den Stickstoffgehalt untersucht worden. Es zeigte sich hierbei im Stickstoffgehalte auf der aschenfreien Substanz berech-

net eine bedeutende Variation, und zwar war derselbe in beiden Fällen bedeutend niedriger als in den reinen Eiweisskörpern der Milch.

5. 0,4065 gr. Substanz enthielt 0,151 gr., ɔ: 37,16% Asche.
   0,1075 gr. Substanz gab 13,1 cbcm. $^1/_{20}$ norm. N = 0,00917 gr.; d. i. in verbrennbarer Substanz 13,59% N.
   0,127 gr. Substanz gab 15,5 cbcm. $^1/_{20}$ norm. N = 0,01085 gr.; d. h. in verbrennbarer Substanz 13,56% N.
6. 0,8815 gr. Substanz enthielt 0,5935 gr., ɔ: 67,33% Asche.
   0,240 gr. Substanz gab 10,6 cbcm. $^1/_{20}$ norm. N = 0,0742 gr.; d. h. in verbrennbarer Substanz 9,45% N.
   0,230 gr. Substanz gab 10,0 cbcm. $^1/_{20}$ norm. N = 0,0700 gr.; d. h. in verbrennbarer Substanz 9,32% N.

Als weit vollständigere Fällungsmittel sind Gerbsäure- und Phosphorwolframsäurelösungen zu betrachten.

Almén[1]) brachte zuerst die Anwendung von Gerbsäure für quantitative Eiweissbestimmungen in Vorschlag. Darauf machte Liborius[2]) einige Versuche, um Eiweisskörper mit einer Gerbsäurelösung zu titriren, und es schien aus seinen Untersuchungen hervorzugehen, dass die beiden Körper sich mit einander nach ziemlich constanten Verhältnissen verbinden, so dass die Eiweissmenge ungefähr 60% der Verbindung ausmacht. Seine Bestrebungen, gewichtsanalytische Bestimmungen auf diesem Wege zu machen, scheiterten daran, dass die Verbindung beim Auswaschen mit Weingeist zerstört wurde.

Die Gerbsäuremethode wurde nun näher von Girgensohn[3]) und von Taraszewicz[4]) untersucht, wonach die Titrirmethode als weniger sicher verlassen wurde, während es zu gleicher Zeit angegeben wurde, dass wenn man die Milch mit Gerbsäure nach näher beschriebenen Regeln fällt, und darauf den getrockneten Niederschlag erst mit reinem Petroleumäther, dann mit kochendem Weingeist von ca. 90° Tr.

---

1) Upsala läkareförenings förhandlingar, 1870.

2) Liborius, Beitrag zu quantit. Eiweissbestimmungen. Dorpat 1871.

3) Beiträge zur Albuminometrie u. z. Kenntniss der Tanninverbindungen der Albuminate. Dorpat 1872.

4) Einige Methoden zur Werthbestimmung der Milch. Dorpat 1873.

extrahirt, bleibt die ganze Eiweissmenge in reinem Zustande zurück.

Um den Grad der Vollständigkeit zu untersuchen, womit die Eiweisskörper sich mittelst Gerbsäure ausfällen lassen, werden die folgenden Versuche vorgenommen, und zwar mit Lösungen von 1. reinem Ovalbumin, aus Hühnereieiweiss dargestellt, so wie S. 137 besprochen; — 2. und 3. aus reinem Kasein und Calciumphosphat; — 4. aus reinem Kasein in möglichst wenig Alkali gelöst; — 5. aus reinem Laktalbumin; — 6. aus Ovalbumin, welches zwar etwas Magnesiumsulfat enthielt, aber frei von fremden stickstoffhaltigen Bestandtheilen war. In 1, 4 und 5 wurden vor der Fällung einige cbcm. gesättigte Kochsalzlösung der Flüssigkeit zugesetzt. Die Gerbsäurelösung war nach Almén's Recept[1]) bereitet und in folgenden Mengen verwendet: bei 1: 5 cbcm.; bei 2: 10 cbcm.; bei 3: 10 cbcm.; bei 4: 2 cbcm.; bei 5 und 6 nicht näher bestimmte Mengen. In sämmtlichen Versuchen wurde eine directe Bestimmung der totalen Stickstoffmenge der Lösung vorgenommen. In der mit Gerbsäure gefällten Portion wurde der Niederschlag vollständig mit kaltem Wasser ausgewaschen und dann die Stickstoffbestimmung theils in dem Niederschlage, theils in dem eingedunsteten Filtrate vorgenommen.

	1.	2.	3.	4.	5.	6.
% Total-Stickstoff, direct bestimmt. . .	0,294	0,152	0,294	0,221	0,229	1,18
gr. Lösung zur Fällung benutzt	10,0	9,930	10,000	10,000	11,550	5,541
gr. N im Niederschlage	0,0294	0,01512	0,0288	0,0224	0,02506	0,0652
% N im Niederschlage	0,294	0,152	0,288	0,224	0,217	1,177
gr. N im Filtrate . .	0,0007	0,00098	0,000	0,000	0,000	0,000
% N im Filtrate . .	0,007	0,01	0,000	0,000	0,000	0,000

Es geht hieraus hervor, dass die Gerbsäure im Stande ist, jede Spur von Eiweisssubstanz auszufällen, wenigstens

[1]) L. c.: 4 gr. Gerbsäure, 8 cbcm. 25procentige Essigsäure, 190 cbcm Weingeist (ca. 40—50procentig).

jedenfalls bei den drei untersuchten Eiweissmodificationen. Doch ist zu bemerken, dass es für das Gelingen der Fällung nothwendig ist, dass sich eine hinreichende Salzmenge in die Lösung findet; eine fast aschenfreie Eiweisslösung wird ebenso schwer mit Gerbsäure wie bei anderen Coagulationsmethoden (Weingeist, Kochhitze) gefällt. Ist die Lösung sehr verdünnt, setzt man also am besten etwas Kochsalz, Natriumacetat, Magnesiumsulfat oder dergleichen hinzu.

Die Versuche, welche in obiger Tabelle dargestellt sind, scheinen anzudeuten, dass ein Ueberschuss an Gerbsäure nicht schädlich auf die Vollständigkeit der Fällung influirt[1]). Noch deutlicher geht dies doch aus den folgenden Versuchen hervor:

Von einer mittelst etwas Natriumphosphat bereiteten Kaseinlösung wurde gefällt:

a) 5,358 gr. Lösung mit ca. 5 cbcm. Gerbsäurelösung. Der voluminöse Niederschlag enthielt nach dem Auswaschen 0,01372 gr. = 0,256 % N. Das Filtrat war ganz stickstofffrei.

b) 5,363 gr. Lösung mit 50 cbcm. Gerbsäurelösung. Der Niederschlag zog sich hierbei zu harzartigen Klümpchen zusammen; er enthielt 0,01358 gr. = 0,253 % N. Auch hier war das Filtrat ganz stickstofffrei.

Uebrigens ist aber die Behandlung des Niederschlages durchaus nicht gleichgültig. Die Fällung soll in der Kälte geschehen und das Waschen mit kaltem Wasser vorgenommen werden. Wäscht man mit kochendem Wasser oder mit Weingeist, wird ein messbarer Theil des ausgefällten Eiweisskörpers wieder in Lösung gehen, so wie es aus den jetzt zu beschreibenden Versuchen dargelegt wird.

Die Reihe 1 wurde mit einer reinen Ovalbuminlösung, in vorher beschriebener Weise gewonnen, dargestellt;

2: mit Lösungen von reinem Kasein;

3: mit gewöhnlichem Hühnereiweiss, welches nur mit Wasser verdünnt, und von den ausgeschiedenen Membranen

---

[1]) Bei einem unverhältnissmässig grossen Ueberschuss an Fällungsmittel wird doch möglicherweise die bedeutende Weingeistmenge, die hierdurch in die Mischung gebracht wird, hindernd wirken (siehe unten).

und Globulinsubstanzen abfiltrirt, darauf mit etwas Kochsalzlösung versetzt wurde;

4: mit gewöhnlicher Magermilch, mit ihrem doppelten Volumen Wasser verdünnt, und ausserdem mit etwas Kochsalzlösung versetzt.

Von jeder von diesen Lösungen wurden mehrere gleich grosse Portionen à 10 cbcm. genau abgemessen, und darauf mit gleich grossem Ueberschusse von Gerbsäurelösung gefällt. Der Niederschlag wurde in folgender Weise behandelt:

a) Der Niederschlag wurde mit kaltem Wasser gewaschen und dann getrocknet.
b) Die Mischung wurde nach der Fällung gewärmt, wobei der Niederschlag sich zu harten, spröden Klümpchen zusammenballte; die letzteren wurden auf dem Filtrum gesammelt und wie in a mit kaltem Wasser gewaschen.
c) Der nicht erwärmte Niederschlag wurde mittelst kaltem Wasser auf das Filter gebracht, zuerst einige mal mit kaltem Wasser, darauf mit kochendem Wasser gewaschen, wobei er sich stark zusammenballte.
d) Der nach a mit kaltem Wasser gewaschene Niederschlag wurde weiter mit kaltem Weingeist von 97° Tr. behandelt.
e) Der Niederschlag wurde wie in d, jedoch mit kochendem Weingeist behandelt.

Meistens wurde das Filtrat trübe schon beim Auswaschen mit kochendem Wasser oder mit Weingeist, und während dem Einkochen des Filtrates schieden sich grosse Flocken aus, die sich bei der Stickstoffbestimmung als Eiweisssubstanz zeigten.

Weil die Lösungen 3 und 4 nicht reine Eiweisslösungen waren, liess es sich erwarten, dass die Niederschläge etwas Fett enthalten konnten, weshalb dieselben nach dem Auswaschen mit Wasser, resp. Weingeist, und nachherigem Trocknen, mit Petroleumäther behandelt wurden, um sie zu entfetten; darauf wurde wieder bis zum constanten Gewicht getrocknet.

Versuch.	Gewicht der Fällung mgr.	mgr. N in der Fällung.	mgr. N im Filtrat.	Total-N mgr.	Procent des Total-N's in der Fällung.	Procent des Total-N's im Filtrat.	Procent N in der Fällung.
1. a)	53,2	4,97	0,07	5,04	98,61	1,4	9,34
c)	35,0	4,76	0,07	4,83	96,07	1,4	13,60
d)	27,8	4,41	0,56	4,97	88,7	11,2	15,87
2. a)	289	34,30	0,49	34,80	98,5	1,5	11,37
b)	287	32,83	2,00	34,83	94,2	5,8	11,44
e)	288	32,55	2,05	34,60	94,1	5,9	11,30
3. a)	129,4	11,97	1,12	13,09	91,5	8,5	9,25
b)	86,9	11,13	2,10	13,23	84 1	15,9	13,80
d)	68,1	10,78	2,31	13,09	82,4	17,6	15,9
e)	65,3	10,78	2,31	13,09	82,4	17,6	16,5
4. a)	169,5	15,26	1,68	16,94	90,1	9,9	9,36
b)	144,5	14,91	1,82	16,73	89,1	10,9	10,32
c)	133,5	14,21	2,66	16,87	84,3	15,7	10,62
d)	98,5	14,00	3,08	17,08	82,0	18,4	14,2

Die minimalen Stickstoffmengen, die sich in den Filtraten 1a und 2a finden, können als bedeutungslos betrachtet werden, und in diesen Fällen darf man sagen, dass die Gerbsäure eine vollständige Ausfällung der reinen Eiweisskörper bewirkt hat. Die bedeutend weniger vollständige Ausfällung des Stickstoffes in 3a und 4a beruht darauf, dass sowohl Milch wie Hühnereiweiss etwas nicht eiweissartige, aber doch stickstoffhaltige Substanz enthält. Bemerkenswerth ist, dass die ca. 9 % der totalen Stickstoffmenge der Milch, welche nicht mit Gerbsäure auszufällen ist, mit dem Resultate zahlreicher anderen Analysen, nach anderen Methoden angestellt, übereinstimmen.

In den Versuchsserien 1, 3 und 4 ist bei dem Auswaschen mit kochendem Wasser und mit Weingeist relativ mehr Gerbsäure als Eiweisssubstanz entfernt worden, so dass annäherungsweise reine Eiweisssubstanz hinterlassen ist. Es liess sich daher denken, dass man am einfachsten den mit Wasser ganz ausgewaschenen Niederschlag erst vollständig trocknet, um die

Eiweisssubstanz unlöslich zu machen, ehe man die Extraction mit Weingeist beginnt. Hierdurch sollte sich danach die Fällung als reine Eiweisssubstanz ohne Verlust wägen lassen. Doch wird man erfahren, dass die Fällung sich beim Trocknen zu einer lederartigen Masse zusammenzieht, welche mit dem Filtrum zusammenklebt und ganz unzugänglich für die Einwirkung des Weingeistes wird.

Die Zusammensetzung des mit kaltem Wasser ausgewaschenen und darauf getrockneten Gerbsäureniederschlages wird erhellt theils aus obigen Beispielen, theils aus den nachfolgenden Stickstoffbestimmungen in derartigen Fällungen verschiedener Darstellung:

1.	0,010	gr. Substanz enthielt	0,00161	gr. N,	ɔ:	16,1 %.
2.	0,0115	» » »	0,00112	» »	ɔ:	9,8 »
3.	0,011	» » »	0,00112	» »	ɔ:	10,2 »
4.	0,0345	» » »	0,00364	» »	ɔ:	10,5 »
5.	0,035	» » »	0,00378	» »	ɔ:	10,8 »
6.	0,0395	» » »	0,00395	» »	ɔ:	10,0 »
7.	0,047	» » »	0,00462	» »	ɔ:	9,8 »
8.	0,095	» » »	0,00917	» »	ɔ:	9,9 »
9.	0,1135	» » »	0,00910	» »	ɔ:	8,0 »
10.	0,1135	» » »	0,00790	» »	ɔ:	7,0 »

Sieht man von den beiden extremen Fällen mit 16 und 7 % ab, so bewegt sich die Variation des Stickstoffgehaltes wesentlich zwischen 8 und 11,37 %, welches einem Gehalt von 51 bis 75 % Eiweisssubstanz (mit 15,7 % N) entspricht. Was das erstere Extrem mit 16 % Stickstoff betrifft, so mag dieses möglicherweise in einem directen Fehler in der Bestimmung begründet sein, denn eine Aufnahme von nur 0,5 mgr. fremden Stickstoff aus der übrigens stets relativ ammoniakfreien Laboratoriumsatmosphäre würde eine solche Abweichung vom Normalen bewirken können; dagegen wird die Ursache zur Abweichung im letzteren Falle (mit 7 %) vielleicht eher in einem weniger vollständigen Auswaschen des ziemlich grossen und voluminösen Niederschlages zu suchen sein. Selbst wenn man aber einräumen will, dass die Variation des Stickstoffgehaltes nur selten über 10 % steigt (64 % Eiweisssubstanz entsprechend) oder unter 9 % sinkt (57 % Eiweisssubstanz

entsprechend), so wird doch diese Variation so bedeutend sein, dass der Fehler, womit das Gewicht einer Fällung von sämmtlichen Eiweisskörpern der Milch behaftet wird, einen bedeutenden Procenttheil der ganzen Milchmenge ausmachen kann.

Anders stellt es sich dagegen, wenn die Methode als «Restmethode» angewendet wird, nachdem man zuerst die Hauptmenge der Eiweisskörper mit anderen Mitteln, z. B. mit Weingeist, oder Erhitzen, oder mit Säure entfernt hat. In solchem Falle wird der ganze Gerbsäureniederschlag von dem im Filtrate bleibenden Reste höchstens einige Centigramm pr. 10 gr. Milch betragen, und dann wird der Fehler, welcher entsteht, wenn man mit Liborius 60% des Niederschlages anstatt 57 oder 64%, keine besonders grosse Bedeutung erhalten; denn selbst wenn man 0,100 gr. Gerbsäureniederschlag annimmt, so wird der Fehler, wenn man 60% hiervon als Eiweisssubstanz rechnet, höchstens 0,010 gr. ausmachen, oder auf 10 gr. Milch umgerechnet, 0,1%.

Während also die Gerbsäure eine absolut vollständige Ausfällung der eigentlichen Eiweisskörper bewirkt, werden die peptonartigen Körper, sowohl wirkliche «Peptone» wie «Albumosen», höchst unvollständig von diesem Reagense gefällt. In den folgenden Versuchen mit Lösungen, die Digestionsproducte verschiedener Eiweisskörper mit Pepsin und Salzsäure enthielten, war die Fällung stets mehr oder weniger unvollständig.

1. Ein Präparat aus Deuteroalbumin (Kühne) bestehend [Meissner's b-Pepton] wurde durch Pepsindigestion einer Lösung von reinem Kasein in Salzsäure von $^1/_4$% HCl, Abfiltriren des ausgeschiedenen Nucleins, Sättigung des neutralisirten und eingedunsteten Filtrats mit Kochsalz in Substanz und Fällung des Filtrates von den ausgeschiedenen Prot-, Hetero- und Dysalbumosen mit Essigsäure gewonnen. Die ausgeschiedene Deuteroalbumose wurde nach Neutralisation und Lösung in Wasser durch weitere Sättigung mit Kochsalz u. s. w. gereinigt, und endlich wurde der grösste Theil des Kochsalzes aus der neutralisirten Lösung des zwei mal mit

Essigsäure gefällten Niederschlages durch Dialyse entfernt. Es zeigte sich alsdann keine Fällung mehr mit Kochsalz in Substanz, auch nicht mit mittelstarker Salpetersäure, wohl aber mit einer essigsauren Lösung von gelbem Blutlaugensalz.

Eine solche Lösung enthielt:

in 4,103 gr. 0,00574 gr. N = **0,140**%.

9,985 gr. Lösung wurden mit etwas Salzlösung und Ueberschuss an Gerbsäure gefällt. Der Niederschlag enthielt 0,0042 gr. N = **0,04**%.

2. Ein Deuteroalbumosepräparat, in analoger Weise aus Fibrin dargestellt, zeigte dieselben Reactionen wie das obige.

5,063 gr. Lösung enthielten im Ganzen 0,03612 gr. N, ɔ: **0,713**%.

5,215 gr. derselben Lösung wurden mit etwas Salz und Ueberschuss von Gerbsäure gefällt. Der Niederschlag enthielt 0,0231 gr. N, ɔ: **0,443**%. Das Filtrat enthielt 0,01512 gr. N, ɔ: **0,290**%.

3. Ein Präparat, hauptsächlich aus Protalbumose bestehend, wurde dargestellt aus coagulirtem Hühnereiweiss, Fällung des neutralisirten und filtrirten Digestionsproductes mit Kochsalz und Reinigung der hierbei entstehenden Fällung durch wiederholtes Lösen, Filtriren, Fällen und endlich Dialyse.

9,885 gr. der Lösung wurden mit etwas Salzlösung und Ueberschuss an Gerbsäure gefällt. Der Niederschlag enthielt 0,00434 gr. N, ɔ: **0,044**%. Das Filtrat enthielt 0,00364 gr. N, ɔ: **0,037**%.

4. Eine andere Lösung desselben Präparates wurde in derselben Weise behandelt.

4,966 gr. Lösung gaben in der Fällung mit Gerbsäure 0,00392 gr. N, ɔ: **0,079**%. Das Filtrat enthielt 0,00252 gr. N, ɔ: **0,051**%.

5. Ein ähnliches Präparat anderer Darstellung.

6,760 gr. Lösung enthielten 0,00518 gr. N, ɔ: **0,077**%.

9,964 gr. Lösung wurden mit Salz und Gerbsäure gefällt. Die Fällung enthielt 0,00392 gr. N, ɔ: **0,039**%. Das Filtrat enthielt 0,00406 gr. N, ɔ: **0,041**%.

6. Reines Pepton wird von Ueberschuss an Gerbsäure vollständig gelöst. Die Digestionsproducte von reinem Kasein wurden nach dem Abfiltriren des Nucleins mit pulverförmigem Ammoniumsulfat gesättigt, wodurch sämmtliche Albumosen ausgeschieden werden. Das Filtrat hiervon wurde, nach Verdünnen, mit einer n i c h t h i n r e i c h e n d e n Menge Gerbsäure

gefällt. Der näheren Untersuchung halber wurde der ausgeschiedene Niederschlag abfiltrirt, ausgewaschen und in Wasser aufgeschlämmt, darauf mit geringem Ueberschuss von Barytwasser zersetzt, wonach der Ueberschuss von letzterem wieder durch einen Kohlensäurestrom entfernt wurde. Die so erhaltene Lösung zeigte, nach Concentration bei ca. 40° C., starke Biuretreaction mit Kupfersulfat und Natron, dagegen keinen Niederschlag, weder beim Kochen allein, noch beim Sättigen mit Kochsalz, noch Zusatz von Salpetersäure, auch nicht mit Kochsalz und Essigsäure zusammen, noch mit Blutlaugensalz und Essigsäure. Die Lösung enthielt somit echtes Pepton (im Kühne'schen Sinne; Meissner's c-Pepton). Ammoniumsulfat brachte zwar eine Trübung hervor, die doch aber wahrscheinlich durch Reaction des Sulfats auf das stark barythaltige Präparat herrührte. Gerbsäurelösung rief eine starke flockige Fällung hervor, die sich beim Ueberschusse des Fällungsmittels stark zusammenballte und zuletzt vollständig wieder in Lösung ging.

Die eiweissfällenden Eigenschaften der Phosphorwolframsäure sind wenigstens ebenso gross wie die der Gerbsäure. Dies Reagens wurde bei meinen Versuchen als eine Lösung der krystallisirten Säure in 5 Theile Wasser, welche mit 2% concentrirte Schwefelsäure vermischt wurde, verwendet.

1. 10,865 gr. einer Ovalbuminlösung wurden mit Phosphorwolframsäure gefällt. Der Niederschlag enthielt 0,00854 gr. N, ɔ: **0,079%**; das Filtrat war dagegen ganz stickstofffrei.
2. 10,040 gr. einer Lösung von reinem Kasein gaben in der Fällung mit Phosphorwolframsäure 0,0182 gr. N, ɔ: **0,181%**; das Filtrat war auch hier ganz stickstofffrei.

Den Albumosen gegenüber verhält die Phosphorwolframsäure sich, wenn auch nicht ganz unzweideutig als ein absolut vollständiges Fällungsmittel, so doch als ein mehr vollständiges solches als die Gerbsäure.

1. Die S. 149, 3 genannte Lösung von Protalbumose aus Ovalbumin, welche im Ganzen 0,081% N enthielt, wurde mit Phosphorwolframsäure gefällt. Der Niederschlag aus 9,877 gr. Lösung enthielt 0,00756 gr. N, ɔ: **0,077%** in der Lösung. Das Filtrat enthielt 0,0014 gr. N, ɔ: **0,014%**.

2. 4,968 gr. einer anderen Lösung derselben Substanz (S. 149, 4) zeigte im Phosphorwolframsäureniederschlag 0,00616 gr. N, ɔ: 0,124 %, während die totale Stickstoffmenge oben (S. 149) zu 0,130 % bestimmt wurde.
3. Eine grössere Menge (ca. 1,5 gr.) eiues Albumosepräparats, sowohl Protalbumose wie Deuteroalbumose enthaltend, wurde in Wasser gelöst, und so lange mit Schwefelsäure- und Phosphorwolframsäurelösung gefällt, bis weiterer Zusatz keine Fällung mehr gab. Das gesammelte Filtrat wurde eingeengt und wie eine Stickstoffbestimmung behandelt, zeigte sich aber ganz stickstofffrei.

Das Verhalten zu Pepton wurde bei dem folgenden Versuche mit dem oben beschriebenen Präparate von reinem Kaseinpeptone geprüft:

Der Phosphorwolframsäureniederschlag aus 12,398 gr. Lösung enthielt 0,02285 gr. N, d. h. 0,184 % vom Gewichte der Lösung. Das Filtrat hiervon, welches bei der Prüfung mit mehr Fällungsmittel keine vermehrte Fällung gab, enthielt noch 0,00126 gr. N, ɔ: 0,01 %.

Das Resultat stimmt wohl am nächsten mit dem von Hirschler[1]) gefundenen überein, wonach die Peptone von Phosphorwolframsäurelösungen vollständig gefällt werden.

2. Finden sich in der Milch ausser den eigentlichen Eiweisskörpern auch Albumosen und Peptone, die möglicherweise auf eine Bestimmung der Totaleiweissmenge influiren können?

Die Frage von dem Vorkommen von Pepton in der Milch ist zu verschiedenen Zeiten in der physiologisch-chemischen Literatur sehr verschieden beantwortet worden[2]). Am meisten sind die Peptone und Albumosen unter eins betrachtet worden. Wird man sich indessen von dem Vorhandensein des wirklichen Peptons (im Kühne'schen Sinne) überzeugen, so muss man erst mit Ammoniumsulfat alle sowohl eigentlichen Eiweisskörper wie Albumosen entfernen. Da nun aber die Peptone mif Sicherheit nicht viele andere positive Reactionen als die Biuretreaction und die Gerbsäurereaction zeigen, in-

---

[1]) Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. XI, S. 27—29.

[2]) Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. II, S. 288. — Schmidt-Mülheim, Archiv f. die gesammte Physiologie, Bd. XXVIII, S. 287. — Dogiel, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. IX, S. 591.

dem die Reaction mit Phosphorwolframsäure nicht bei Gegenwart von Ammoniumsulfat anzuwenden ist, werden die beiden genannten Reactionen auf das Filtrat der mit Ammoniumsulfat gesättigten Flüssigkeit von dem Vorhandensein des Peptons Aufklärung geben können.

Die Untersuchungen wurden in folgender Weise ausgeführt. Eine passende Menge, ca. 50 cbcm. der auf Pepton zu untersuchenden Milch, wurde bei nicht gar zu niedriger Temperatur (ca. 20° C.) vollständig mit festem, fein gepulvertem Ammoniumsulfat gesättigt. Nach völliger Sättigung wurde die Mischung filtrirt und, der Controlle halber, das Filtrat stets mit etwas mehr Ammoniumsulfat geprüft.

Um nun die Biuretreaction auf diesem Filtrate anzustellen, wurde es nach Kühne's Vorschrift[1]) mit einem grossen Ueberschusse, ca. $2^1/_2$ Volumen ca. 40procentiger Natronlauge versetzt, und danach eine verdünnte Lösung von Kupfersulfat zugetröpfelt, bis eine beginnende Farbennuance eben zu sehen ist. Geht diese in Richtung von reinem Blau, so ist sie nur auf die Einwirkung des überschüssigen Ammoniaks auf das Kupfersalz begründet, hat sie dagegen einen röthlich violetten Ton, so beruht dies auf anwesendem Pepton.

Diese Reaction ist doch keineswegs fein. Ein Controllversuch mit einer gesättigten wässerigen Lösung von Ammoniumsulfat, welche mit ca. 0,005 % Pepton in wässrige Lösung versetzt war, und die mit Gerbsäure einen deutlichen, im Ueberschuss vom Fällungsmittel löslichen Niederschlag gab, zeigte bei Anstellung der Biuretprobe nur eine reine blaue Farbe. Setzte man dagegen so viel Pepton hinzu (ca. 0,1 %), wie Schmidt-Mülheim als normaler Bestandtheil der Milch angiebt, so erhält man eine sehr starke und deutliche rothviolette Biuretreaction. Bei Untersuchungen von Milch und dergleichen Substanzen ist die Reaction stets einigermassen schnell auszuführen und zu beurtheilen; wartet man eine Stunde lang, wird nämlich immer eine Rothfärbung von ausgeschiedenem Kupferoxydul, von der Reaction des Milch-

[1]) Zeitschrift für Biologie, N. F., Bd. IV, S. 424.

zuckers auf die stark alkalische Kupferlösung herrührend, auftreten.

Die Prüfung mit Gerbsäure wird so ausgeführt, dass man das mit seinem gleichen Volum Wasser verdünnte salzgesättigte Filtrat mit einigen Tropfen Gerbsäurelösung versetzt. Vorhandensein von Pepton wird dann eine Fällung hervorrufen, welche jedoch bei Ueberschuss von Gerbsäure wieder verschwinden wird.

Bei in beschriebener Weise angestellten, mehrere mal wiederholten Prüfungen der Milch zu verschiedenen Zeiten des Jahres, sowohl als Vollmilch als in abgerahmtem Zustande, sowohl von einer ganzen Heerde wie von einzelnen Kühen, im letzteren Falle sowohl vom Beginne wie vom Schluss der Laktationsperiode, konnte ich indessen nie eine Spur von einem positiven Ausschlag der Reaction, weder bei der Biuretprobe noch mit Gerbsäure, entdecken. Auch das Suchen nach Pepton in Colostrum blieb ohne positives Resultat. Auch nicht in Milch, welche nach 10tägigem Stehen bei ca. 10° C. stark sauer geworden war, konnte ich, im Gegensatz zu Hofmeister[1]), Pepton nachweisen. Dasselbe gilt auch von saurer Buttermilch.

Da sich bei der Labwirkung auf Kasein ein leicht lösliches «Molkenprotein» bildet, welches nach Ausscheidung des Käses in den Molken zurückbleibt, und dieser Körper nach den Untersuchungen von Hammarsten[2]) und Köster[3]) eine mit den Peptonen jedenfalls nahe verwandte Substanz zu sein scheint, war es denkbar, dass eine in oben besprochener Weise vorgenommene Untersuchung der Molken positive Reaction auf Pepton zeigen würde. Das Resultat blieb jedoch stets negativ, ein einziger Fall ausgenommen, wo zwar die Biuretreaction auch ausblieb, aber Gerbsäure einen äusserst schwachen Niederschlag hervorrief, der jedoch erst nach mehreren Stunden Stehenlassen deutlich wurde.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. II.
2) Upsala läkareförenings förhandlingar, 1874, Bd. IX.
3) Ib., 1881, Bd. XVI.

Bei häufiger Wiederholung des Versuches mit anderen Molkenproben blieb die Reaction immer aus.

Es scheint somit, als ob selbst solche fermentative Processe, die bei der Säuerung und der Käsung der Milch wirksam sind, keine Peptonbildung hervorzurufen im Stande sind. Trotzdem lässt es sich aber wohl denken, dass andere Producte, aus Milch durch fermentative Wirkungen dargestellt, Peptone enthalten können. Von solchen hat Hammarsten[1]) den Kefir untersucht, doch auch mit dem Resultate, dass eigentliches Pepton (im Kühne'schen Sinne) hierin nicht vorkömmt.

Dagegen darf in diesem Zusammenhange die sogenannte «fadenziehende Milch» (schwedisch: «lång- oder tätmjölk»), welche in den nördlichen Gegenden von Skandinavien und in Finland als ein beliebtes Nahrungsmittel consumirt wird, besprochen werden. Mit einer solchen, als «långmjölk» signirten, aus Jemtland in Schweden erhaltenen Probe wurde im Sommer 1886 gewöhnliche süsse, neugemolkene Milch inficirt. Die Mischung stand ca. 1 Jahr bei gewöhnlicher Stubentemperatur in einer lose verschlossenen Flasche; sie zeigte danach zwar keine völlig so ausgesprochene zähe, schleimige Consistenz, als die Beschreibungen von diesem Producte ihr beilegen, aber wurde doch von einem eingeborenen «Norrländing» für echte «långmjölk» erklärt. Es hatte sich keine Spur von Schimmelvegetation eingefunden; die Reaction war stark sauer. Nach vollständigem Sättigen mit Ammoniumsulfat zeigte das Filtrat gleich eine starke Biuretreaction, und mit Gerbsäure wurde in dem mit Wasser verdünnten Filtrate eine im Ueberschuss vom Fällungsmittel grosse Fällung erhalten.

Die gleiche Untersuchung mit einer neuen Probe von «långmjölk», die direct aus der Umgebung von Umeå im nördlichen Schweden versendet war, zeigte dieselben starken Reactionen, sowohl bei der Biuretprobe wie mit Gerb-

---

[1]) Upsala läkareförenings förhandlingar, 1886; — auch Eigenreferat in Maly's Jahresbericht, Bd. XVI, S. 163.

säure, auf einen nicht unbedeutenden Enthalt von Pepton deutend.

Der Umstand, dass in den Molken kein eigentliches Pepton sich nachweisen liess, liess vermuthen, dass das Molkenprotein vielleicht eher zu der Gruppe der mit Ammoniumsulfat fällbaren Albumosen gehöre, welche übrigens in mehreren Hinsichten mit dem Pepton Aehnlichkeit zeigen. Da die Albumosen, im Gegensatz zu den eigentlichen Eiweisskörpern, nur unvollständig von überschüssiger Gerbsäure gefällt werden (siehe oben S. 148—149), wäre es möglich, dass man, unter Voraussetzung von der Richtigkeit der oben besprochenen Annahme, beim Versetzen der Molken mit einem Ueberschuss von Gerbsäurelösung eine grössere Stickstoffmenge im Filtrate erhalten wird, als wenn man nur eben die zur Ausscheidung der eigentlichen Eiweisskörper nöthige Gerbsäuremenge hinzusetzt. Ein negatives Resultat dürfte doch nicht als Gegenbeweis gegen die Albumosennatur des Molkenproteins aufgefasst werden, da diese Substanz jedenfalls nur in sehr geringer Menge in den Molken vorhanden ist, und es ist zu erwarten, dass die betreffenden Differenzen in den analytischen Ergebnissen, worauf die obige Annahme gestützt werden sollte, nur höchstens minimal sind.

1. 5,103 gr. Molken enthielten im Ganzen 0,0756 gr. N, ɔ: **0,148 %.**

2. 5,080 gr. Molken wurden mit 2,5 cbcm. Gerbsäurelösung gefällt:

Der Niederschlag enthielt .	0,0056 gr. N,	ɔ:	0,110 %,
das Filtrat » .	0,00168 »	» ɔ:	0,033 »
	Summa . .		**0,143 %.**

3. 5,087 gr. Molken wurden mit 10 cbcm. Gerbsäurelösung gefällt:

Im Niederschlage war . . .	0,0053 gr. N,	ɔ:	0,104 %,
im Filtrate » . . .	0,00252 »	» ɔ:	0,043 »
	Summa . .		**0,147 %.**

4. 5,045 gr. Molken wurden mit 3 cbcm. Phosphorwolframsäurelösung gefällt:

Im Niederschlage war . .	0,00588 gr. N,	ɔ:	0,117 %,
im Filtrate » . .	0,00140 »	» ɔ:	0,028 »
	Summa . . .		**0,145 %.**

Bei dem folgenden Versuche wurden grössere Portionen der Molken in Arbeit genommen, um den Unterschied in den

absoluten Mengen des zurückbleibenden Stickstoffes deutlicher hervortreten zu lassen.

10,023 gr. Molken enthielten im Ganzen 0,01316 gr. N, ɔ: 0,131 %.

Die zwei Portionen 1 und 2, jede von 25,00 gr. genau abgewogen, wurden gefällt, 1 mit 8 cbcm., 2 mit 60 cbcm. Gerbsäurelösung. Die Fällungen wurden sehr genau mit kaltem Wasser ausgewaschen, darauf Filtrat und Waschwasser erst in einer Porcellanschale, dann in einem Kjeldahl'schen Kölbchen eingedampft und als Stickstoffbestimmung behandelt. Es wurden gefunden:

1. 0,00644 gr. N, ɔ: 0,026 %.
2. 0,00630 » » ɔ: 0,025 »

Wenn auch möglicherweise der erstere dieser Versuche (vorige Seite) in Richtung der genannten Annahme gedeutet werden konnte, so macht der letztere Versuch es nicht wahrscheinlich, dass in den Molken bedeutendere Mengen eines albumosenartigen Körpers mit der Eigenschaft, ganz oder theilweise von überschüssiger Gerbsäurelösung gelöst zu werden, vorhanden sind.

Gewöhnliche Milch verhält sich in dieser Hinsicht ganz in derselben Weise.

Der Stickstoffrest, welcher in der Milch nach dem Ausfällen der Eiweisskörper mit Gerbsäure zurückbleibt, gehört dem von Schmidt-Mülheim[1]) nachgewiesenen Harnstoffe, Lecithin und Hypoxanthin. Schmidt-Mülheim fand, dass die Milch pr. 100 cbcm. gewöhnlich 40—50 mgr. N enthält, welche nicht eiweiss- oder peptonartigen Substanzen gehören. Nach zahlreichen Analysen von Milch darf ich dies bestätigen und kann hinzufügen, dass es sich gewöhnlich mit den Molken ebenso verhält; doch muss es auch bemerkt werden, dass die genannten Grenzwerthe keineswegs absolut constant sind. Sowohl für Milch wie für Molken habe ich mehrmals beobachtet, dass diese Ziffer auf 0,03 % der Milch sinken kann. Ich muss ausdrücklich hervorheben, dass dies nicht in einem weniger vollständigen Auswaschen des Gerbsäureniederschlages

[1]) Pflüger's Archiv für die ges. Physiologie, 1883, Bd. XXX, S. 379.

begründet ist, denn dieses wurde mit der grössten Sorgfalt ausgeführt. Auf der anderen Seite kann dieser Theil der Stickstoffmenge der Milch unter besonderen Verhältnissen auch die genannte obere Grenze überschreiten; so wird es z. B. aus dem letzten Abschnitte dieser Abhandlung hervorgehen, dass das Colostrum ca. 0,08 % durch Gerbsäure nicht fällbaren Stickstoff enthalten kann, welcher also als nicht eiweissartig zu betrachten ist.

Der Umstand, dass die Milch überhaupt andere stickstoffhaltige Bestandtheile als Eiweisssubstanz enthält, bewirkt natürlich, dass man nicht die gesammte Eiweissmenge durch Multiplication des Total-Stickstoffes mit dem gewöhnlichen Factor 6,37 berechnen kann. Sehr oft wird man freilich der Wahrheit ganz nahe kommen, wenn man für die Total-Eiweisssubstanz die Formel $(N - 0{,}4) . 6{,}37$, wo N die totale Stickstoffmenge bedeutet, anwendet; aber es muss bestimmt erinnert werden, dass diese Formel aus oben angeführten Gründen keine absolute Gültigkeit beanspruchen kann, und es ist deshalb abzurathen, bei ausgedehnten wissenschaftlichen Untersuchungen die Eiweissmenge aus dem Total-Stickstoff zu berechnen.

Dagegen wird vorgeschlagen, die Total-Eiweissmenge nach der folgenden, ebenso leicht ausführbaren, wie schnellen Methode zu bestimmen. Ca. 3—5 gr. Milch (bei sehr eiweissreichem Colostrum nur ca. 2 gr., bei Molken ca. 10 gr.) werden mit einigen Volumen Wasser verdünnt, ein paar Tropfen Salzlösung (z. B. Natriumphosphat, Kochsalz, Magnesiumsulfat u. s. w.) zugesetzt und mit überschüssiger Gerbsäurelösung gefällt. Der ausgewaschene Niederschlag wird (nebst dem Filtrum mit bekanntem Stickstoffgehalte) direct zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl's Methode verwendet, und das Resultat wird entweder direct als «Total-Eiweiss-N» bezeichnet, oder durch Multiplication mit 6,37 zu Total-Eiweisssubstanz umgerechnet.

Gegenüber den gewöhnlich angewendeten Wägungsmethoden wird die eben beschriebene Methode mit Bezug auf Schnelligkeit in der Ausführung und Bequemlichkeit wesent-

liche Vortheile bieten, und da man wohl auf eine durchschnittliche Genauigkeit in der Stickstoffbestimmung von 0,01 % N mit einem Maximalfehler von 0,02 % rechnen darf, so entspricht dies, dass der begangene Fehler gewöhnlich unter 0,06 % Eiweisssubstanz liegt und nie 0,13 % überschreitet.

Bei den Wägungsmethoden lässt sich kaum eine grössere Genauigkeit erwarten. Denn sieht man auch von den Fehlerquellen ab, welche in dem Auswaschen des Niederschlages für überschüssige Fällungsmittel, Milchzucker u. dgl., in der Extraction des Fettes mit Aether[1]), in dem Trocknen zu constantem Gewichte und dem Wägen des Niederschlages und Filtrums, so wird man jedoch in solchen Fällen, wo der Niederschlag auf der Bildung einer unlöslichen Verbindung zwischen der Eiweisssubstanz und dem Fällungsmitttel beruht (z. B. Metallsalze, Gerbsäure), mit der variablen Zusammensetzung des Niederschlages zu kämpfen haben. Selbst aber da, wo das Ausfällen so vorgenommen wird, dass keine neuen Verbindungen gebildet werden (Ausfällen der Hauptmasse der Eiweisssubstanz nach Puls-Stenberg oder nach Storch mit Weingeist, oder nach Hoppe-Seyler mit Säure und mittelst Coagulation in Kochhitze), so wird man doch hierbei immer nur ein partielles Ausfällen erhalten, und die Methode muss in Verbindung mit einer der vorigen Methoden zur Ausfällung des Restes angewendet werden. Bei diesem letzteren Theil wird man alsdann dieselben oben besprochenen Fehlerquellen und doppelte Mühe obendrein haben. Ausserdem wird man nie das Einäschern des Niederschlages umgehen können, und schon hierin wird eine nicht unwesentliche Quelle zu möglichen Fehlern liegen. Das in den Eiweisskörpern enthaltene Phosphor und Schwefel wird während dem Einäschern möglicherweise im reducirten Zustande verflüchtigt werden; es ist aber auch möglich, dass es zu Phosphorsäure und Schwefelsäure oxydirt wird, welches sich dann mit den Aschenbestandtheilen der Fällungen umsetzen wird, nach

---

[1]) Besonders bei abgerahmter Milch und ähnlichen fettarmen Producten mag hier eine wesentliche Fehlerquelle zu beachten sein.

Regeln, wovon es bis jetzt unmöglich ist, etwas Bestimmtes auszusprechen. Nehmen wir z. B. an, um uns einen Begriff davon zu machen, wie gross der hierbei entstehende Fehler werden kann, dass wir eine Milch mit 3,5 °/₀ Eiweisssubstanz vor uns haben. Der Einfachheit halber berechnen wir die ganze Eiweissmenge als Kasein (ein Gehalt an Albumin würde nur die Schwefelmenge vermehren, die Phosphormenge etwas verringern). Es wird dann in der in 10 gr. Milch enthaltenen Kaseinmenge vorhanden sein:

0,0028 gr. Phosphor, welche 0,0064 gr. P_2O_5 bilden können,
und 0,0028 » Schwefel, » 0,0070 » SO_3 » »

Das Einäschern wird also eine Möglichkeit für die Bildung von 0,0134 gr. Säuren liefern, welche 0,134 °/₀ der Milch ausmachen, und die gänzlich oder theilweise das Gewicht der Aschenbestandtheile vergrössern oder jedenfalls modificiren werden.

Eine Einwendung, die in gewissen Fällen wohl mit Recht gegen diese Bestimmung des Eiweissgehaltes mittelst dem Factor 6,37 gemacht werden kann, ist, dass dieser Factor nicht absolut constant ist. So lange es von gewöhnlicher normaler Milch, welche nicht wesentlich andere Eiweisskörper als Kasein und Albumin (eine Spur von Globulin wird kaum Bedeutung haben) enthält, deren Stickstoffgehalt dem genannten Factor genau entspricht, wird zwar diese Einwendung ohne Bedeutung sein. Dagegen lässt es sich wohl denken, dass unter besonderen Umständen, wie z. B. in Colostrum (siehe unten) und in Molken, welche letztere factisch Molkenprotein mit einem bedeutend niedrigeren Stickstoffgehalt (ca. 13,2 °/₀) als die übrigen Eiweisssubstanzen enthalten, und in solchen Milchpräparaten, welche relativ reich an Albumosen und Peptonen sind, welche vielleicht auch einen abweichenden Stickstoffgehalt haben, wird die Bedeutung des Factors 6,37 nicht ganz berechtigt sein. Für die practische Anwendung übrigens richtig ausgeführter Analysen wird jedoch die Einwendung von keiner Bedeutung sein, da es meist, und namentlich bei physiologischen Untersuchungen, von wenigstens ebenso grossem Interesse sein

wird, die Menge von «Eiweiss-Stickstoff», «Pepton-Stickstoff», «Kasein-Stickstoff» u. s. w. zu erhalten, als die Menge dieser Substanzen selbst.

3. Getrennte Bestimmung von Kasein und Laktalbumin in der Milch.

Die zuerst von Millon und Comaille[1]) eingeführte und später von Hoppe-Seyler[2]) weiter ausgearbeite Methode zur Bestimmung des Kaseins durch Fällen der mit Wasser hinlänglich verdünnten Milch mit verdünnter Essigsäure kann keine exacte Werthe geben, weil die Ausfällung des Kaseins mit dem genannten Reagense nur sehr unvollständig ist. Dasselbe gilt auch von der Ausfällung des Kaseins mittelst Schwefelsäure nach Frenzel ued Weyl[3]). Noch weniger kann die Coagulation der Milch mit Lab, wie Manetti und Musso[4]) es vorgeschlagen haben, und die Bestimmung des ausgeschiedenen Coagulums nach dessen Zertheilung, Auswaschen, Trocknen und Einäschern zuverlässige Kaseinbestimmungen geben; theils wird nämlich stets etwas unausgefällte Käsemasse (Parakasein) oder unverändertes Kasein in den Molken zurückbleiben, theils wird dieser Theil von Factoren abhängen, deren Bedeutung noch bis lange nicht aufgeklärt ist.

Anders verhält es sich mit der Ausfällung des Kaseins mittelst Magnesiumsulfat, welches für diesen Zweck zum ersten Male von Mitscherlich in 1847 benutzt worden sein soll[5]). Später ist die Methode in verschiedenen Modificationen von Tolmatscheff[6]), Makris[7]) und Hoppe-Seyler[8]) ange-

---

[1]) Comptes rendus, t. 59, S. 396.

[2]) Handbuch der physiol.-chem. Analyse, 5. Aufl., 1883, S. 486.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. IX, S. 246.

[4]) Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. XVI, 1877, S. 402.

[5]) Makris, Die Eiweisskörper der Kuh- und Menschenmilch. 1876, S. 20.

[6]) Hoppe-Seyler, Medic.-chem. Untersuchungen, Bd. II, 1867.

[7]) L. c., S. 21.

[8]) Handbuch d. physiolog.-chemischen Analysen, 4.—5. Aufl.

wendet. Letzterer wendet sie doch nur indirect zur Kaseinbestimmung an, indem er wohl das Kasein durch Sättigen mit Magnesiumsulfat in Substanz ausfällt, aber nur das Filtrat von dieser Fällung zur Bestimmung des Albumins (und Peptons) benutzt, und dann das Kasein als Differenz zwischen diesem Resultate und der mittelst einer besonderen Bestimmung ermittelten Totaleiweissmenge berechnet.

Stenberg[1]) unterwarf diese Methode einer kritischen Prüfung, besonders mit Bezug auf die Frage, ob ein Verlust an Albumin entweder durch Mitreissen in die Fällung mit Magnesiumsulfat, oder auf anderem Wege geschieht. Von einem mit Wasser verdünnten Blutserum, welches durch Sättigen mit Magnesiumsulfat von Paraglobulin befreit war, wurden zwei gleich grosse Portionen à 10 cbcm. abgemessen; in der einen wurde die Albuminmenge direct durch Coagulation bei Siedetemperatur und Wägung des ausgeschiedenen Niederschlages mit Abzug der Aschenmenge bestimmt. Die zweite Portion wurde dagegen mit einer Kaseinlösung vermischt, darauf das Kasein aus der Mischung durch Sättigen mit Magnesiumsulfat gefällt und das Albumin wieder im Filtrate wie vorher bestimmt. Für Niederschläge, deren Gewicht zwischen 23 und 47 mgr. ausmachte, fand Stenberg in dieser Weise ein Deficit von 2,3 bis 9,9 mgr. Wenn diese Quantitäten auch nur klein sind, so können sie doch bis ca. $^{1}/_{6}$ der ganzen Albuminmenge ausmachen.

Obgleich die Versuche Stenberg's mit nachfolgungswerther Genauigkeit ausgeführt waren, verdient die Frage doch wohl eine wiederholte Prüfung. Theils lässt es sich nämlich gegen den Versuch Stenberg's einwenden, dass er hierbei Serumalbumin benutzte, welches sich ja möglicherweise anders als das Laktalbumin verhalten kann, theils kann man sich auch die noch mehr bedeutende und mehr wahrscheinliche Einwirkung denken, dass die Albuminbestimmung durch Coagulation nicht absolut genau sei. Wie bekannt, hat Ham-

1) Nordiskt medicinskt Arkiv, 1882.

marsten sowohl für das Kasein[1]) wie für das Fibrinogen[2]) bewiesen, dass die Coagulation, ob dieselbe unter Einwirkung von Ferment oder durch Wärme geschieht, in einer Spaltung, in einem unlöslichen Theil, der sich als Coagulum ausscheidet, und in einem mehr leicht löslichen Bestandtheil, besteht. Die Annahme liegt dann nahe, dass etwas Aehnliches auch bei der Coagulation der übrigen Eiweisskörper geschieht, so dass die Fällung nicht absolut vollständig wird.

Betrachten wir erst die Frage von der Vollständigkeit der Ausfällung des Kaseins. Makris[3]) hat früher die Vollständigkeit der Fällung mittelst Magnesiumsulfat untersucht, aber er probirte nur einmal das salzgesättigte Filtrat vom Kaseinniederschlag, welches er mit Essigsäure ansäuerte; es kam hierbei erst beim Erhitzen zum Kochen ein Niederschlag. Ausser dem Magnesiumsulfat ist auch Kochsalz (in kalkhaltigem Zustande) häufig zum Ausfällen des Kaseins aus der Milch benutzt worden[4]). Auch das Chlorcalcium has das Vermögen, das Kasein ausfällen zu können, aber es fällt dann auch gleichzeitig das Laktalbumin, so dass man hiermit keine Trennung der beiden Eiweisskörper erhält. Dasselbe gilt auch von Chlorbaryum, und die mit diesen beiden letztgenannten Salzen erzeugten Fallungen werden beim Verweilen in der Flüssigkeit in einigen Tagen unlöslich in Wasser[5]).

Von anderen Salzen finde ich, dass Chlorammonium oder Chlorkalium als Substanz in eine Lösung von reinem Kasein in Wasser mit etwas Natriumphosphat hineingebracht, keine Fällung bei gewöhnlicher Temperatur oder Körperwärme

---

[1]) Upsala läkareförenings förhandlingar, 1874.

[2]) Pflüger's Archiv, Bd. XXX, S. 437.

[3]) L. c., S. 21.

[4]) Hammarsten in Upsala läkareförenings förhandlingar, 1874. — Sebelien, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. IX, S. 446.

[5]) Für die Kenntniss hiervon bin ich ursprüngliche Mittheilung von Herrn Prof. Hammarsten Dank schuldig. — Später hat S. Lewith Aehnliches für die Eiweisskörper des Blutserums nachgewiesen (Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol., Bd. XXIV, 1887).

hervorzubringen im Stande sind; beim weiteren Erwärmen (bis ca. 60—70° C.) wird sich dagegen ein Niederschlag ausscheiden, der nicht wieder beim Abkühlen der Flüssigkeit verschwindet. Versetzt man darauf aber die Mischung mit Wasser in Ueberschuss, lösen die Fällungen sich nach hinreichendem Stehen vollständig auf.

Von den besprochenen Salzen scheinen also das Magnesiumsulfat und das Kochsalz am besten für eine Trennung des Kaseins von dem Laktalbumine der Milch geeignet. Die Salze werden am besten als ein halbflüssiger Krystallbrei benutzt, da dieser sich leichter als die lufttrockenen Krystalle löst.

1. Reines Kasein wurde nun in Wasser unter Zusatz von einer minimalen Menge Natron gelöst, darauf mit so viel von verdünnten Lösungen von Chlorcalcium und Natriumphosphat versetzt, dass die milchweisse Farbe (aus Kaseincalciumphosphat) hervortrat. Durch directe Stickstoffbestimmung des mit Gerbsäure ausgefällten Kaseins wurde ein Gehalt von beziehungsweise 0,294 % und 0,288 % Stickstoff gefunden (Tab. S. 143, 3). Mit dieser Lösung wurde nun folgender Versuch angestellt:

a) 10 cbcm. wurden mit 20 cbcm. gesättigter Kochsalzlösung und darauf Kochsalz in Substanz bis zur Sättigung vermischt. Nach dem Filtriren und Auswaschen mit gesättigter Kochsalzlösung wurde das Filtrat mit Wasser verdünnt und mit Gerbsäurelösung versetzt. Beim Stehen zum nächsten Tage hatte sich ein kleiner Niederschlag gesammelt, worin 0,00014 gr. N waren, ɔ: 0.0014 %.

b) Andere 10 cbcm. derselben Lösung wurden in ähnlicher Weise mit Magnesiumsulfat und einer gesättigten Lösung dieses Salzes behandelt. Die ausgewaschene Salzfällung enthielt 0,0294 gr. N, ɔ: 0,294 %. — Aus dem Filtrate schied Gerbsäure zwar eine kleine Fällung aus, die jedoch wahrscheinlich durch die Einwirkung der Gerbsäurelösung auf die Salzlösung entstanden war, denn sie zeigte sich als ganz stickstofffrei.

2. In einer Lösung von reinem Kasein in Wasser unter Zusatz von einer minimalen Menge Alkali wurde durch directe Stickstoffbestimmung gefunden 0,221 % N, durch Stickstoff-

bestimmung in der mit Gerbsäure direct ausgeschiedenen Kaseinfällung 0,224 % N.

a) Von dieser Lösung wurden 10 cbcm. in oben beschriebener Weise mit Kochsalz in Substanz gefällt. Im Niederschlage wurden 0,0218 gr. N gefunden, ɔ: 0,218 %. Aus dem Filtrate schied Gerbsäure keinen stickstoffhaltigen Niederschlag ab.

b) 10 cbcm. wurden in gleicher Weise mit Magnesiumsulfat behandelt. Der Niederschlag enthielt 0,0221 gr. N, ɔ: 0,221 %. — Aus dem Filtrate wurde mit Gerbsäure eine Fällung erhalten, worin 0,00041 gr. N, ɔ: 0,004 %.

Es wird hieraus erlaubt sein zu schliessen, dass sowohl das Kochsalz wie das Magnesiumsulfat in Substanz das Kasein vollständig aus seiner Lösung auszufällen im Stande ist, denn diejenigen Spuren von Stickstoff, welche in einzelnen Fällen im Filtrate nachgewiesen werden konnten, lassen sich gewiss eher aus einem zufälligen Ammoniakgehalt der Laboratoriumluft als aus einer weniger vollständigen Ausfällung der Eiweisssubstanz herleiten. Wo kein specieller Grund zum anderweitigen Verfahren vorhanden ist, wird man doch als Regel, in sofern man den Kaseingehalt überhaupt durch die Stickstoffbestimmung aus dem ausgesalzenen Niederschlag[1]) ermitteln will, das Magnesiumsulfat dem Kochsalze vorziehen. Im letzteren Falle wird man nämlich bei Behandlung des salzhaltigen Niederschlages mit concentrirter Schwefelsäure eine heftige Entwicklung von Chlorwasserstoffgas erhalten, wodurch leicht die Bestimmung verloren gehen kann.

Die Vollständigkeit der Ausfällung des Albumins mit Gerbsäure oder Phosphorwolframsäure ist schon oben bewiesen worden. Makris (l. c., S. 21) hat untersucht, in wiefern das Laktalbumin durch Coagulation mit schwacher Essigsäure bei

---

[1]) Es lässt sich nicht ausführen, die ausgesalzenen Niederschläge durch directe Wägung zu bestimmen. Beim Trocknen der Kochsalzfällung wird das Salz eine genirende Neigung zum «Kriechen» haben; und sowohl bei der Kochsalz- wie bei der Magnesiumsulfatfällung wird man unüberwindbaren Schwierigkeiten begegnen, um das Salz zu einem constanten, bekannten Wassergehalt zu trocknen. Die Bestimmung der Stickstoffmenge bietet daher auch hier die grösste Genauigkeit und die grösste Bequemlichkeit.

Siedetemperatur vollständig ausgefällt wird. Er betrachtet die Ausfällung als vollständig, wenn gelbes Blutlaugensalz in dem klaren Filtrate keinen weiteren Niederschlag erzeugt. Diese Reaction kann doch nicht als hinreichend fein für die Entscheidung der Frage gelten, und namentlich wird die Gegenwart von relativ wenig Eiweisssubstanz und grossen Salzmengen in der von Makris untersuchten Flüssigkeit das Hervortreten der Reaction gehindert haben. In den klaren Filtraten von Eiweisslösungen, die in der Hitze coagulirt waren, habe ich stets starke Reactionen sowohl mit Gerbsäure wie mit Phosphorwolframsäurelösung erhalten, welches darauf hindeutet, dass die Eiweisssubstanz beim Kochen nicht absolut vollständig gefällt wird, — dies mag nun bedeuten, dass der im Filtrate restirende Theil als ein nicht ausgefällter unveränderter Rest, oder eher als ein bei der Coagulation abgetrennter leicht löslicher Bestandtheil zu betrachten ist. Die folgenden quantitativen Versuche bestätigen dies.

In einer Lösung von reinem Ovalbumin wurde die Stickstoffmenge direct in 3,483 gr. Lösung zu 0,00742 gr., ɔ: 0,213 % N bestimmt; durch Fällen mit Gerbsäure wurden aus 10,017 gr. Lösung 0,0196 gr. Stickstoff, ɔ: 0,196 % erhalten.

10,006 gr. der Lösung wurde beim Sieden mit etwas Essigsäure coagulirt. Die Fällung enthielt 0,0182 gr. N, d. h. 0,182 %. — Aus dem Filtrate hiervon schlug Phosphorwolframsäure 0,00238 gr. N, ɔ: 0,023 % nieder. In diesem Versuche hatten also ca. 11—12 % der ganzen Stickstoffmenge sich der fällenden Wirkung der Coagulation entzogen.

Eine andere Lösung derselben Art zeigte das folgende Resultat:

3,211 gr. gaben bei directer Bestimmung 0,03794 gr. N, ɔ: 1,18 %.
5,541 gr. gaben im Gerbsäureniederschlag 0,0672 gr. N, ɔ: 1,177 %.
10.865 gr. wurden bei Kochhitze mit etwas Essigsäure coagulirt. Es fanden sich im Coagulum 0,1134 gr. N, ɔ: 1,044 % [1]).

---

[1]) Während der Destillation der grossen Ammoniakmenge wurde hier ein kleiner Verlust an Stickstoff erlitten.

Aus dem Filtrate schlug Phosphorwolframsäure 0,00854 gr. N, ɔ: 0,079 % nieder. Das Filtrat von diesem letztgenannten Niederschlag enthält noch nur 0,00014 gr. N, also 0,001 %. — Ca. 7 % der ganzen Stickstoffmenge haben sich in diesem Falle der Coagulation entzogen.

Von einer Laktalbuminlösung, welche keine fremden stickstoffhaltigen Substanzen enthält, wurden 10 cbcm. durch Kochen mit einer Spur Essigsäure coagulirt. Das Coagulum enthielt 0,0126 gr. Stickstoff, ɔ: 0,126 %. Aus dem Filtrate wurden mittelst Gerbsäure noch 0,00168 gr. Stickstoff, ɔ: 0,0168 %, oder ca. 12 % der totalen Stickstoffmenge ausgeschieden.

Um nun die Brauchbarkeit der Ausfällung mit Magnesiumsulfat zum Trennen der Haupt-Eiweisssubstanzen der Milch zu untersuchen, wurde eine Kaseinlösung durch Auflösen von reinem Kasein in Wasser unter Zusatz von etwas Natriumphosphat bereitet, und mit kleinen Mengen einer verdünnten Chlorcalciumlösung vorsichtig versetzt zum Hervortreten der für das genuine Milchkasein charakteristischen weissen Färbung. In dieser Lösung wurde der Stickstoffgehalt bestimmt. — In einer Lösung von reinem Laktalbumin, welche durch Dialyse einigermassen salzarm gemacht war, wurde ebenfalls der Stickstoffgehalt bestimmt. Darauf wurden genau abgemessene Portionen der beiden Lösungen gemischt, und von der Mischung wurden Portionen von ca. 10 cbcm. genau abgewogen und darauf wie natürliche Milch behandelt. Es wurde nämlich die zu analysirende Portion einige mal mit seinem gleichen Volumen einer gesättigten Lösung von Magnesiumsulfat verdünnt und darauf dasselbe Salz in fester Form zu Sättigung hinzugesetzt. Nach dem Auswaschen des Niederschlages mit gesättigter Salzlösung wurde seine Stickstoffmenge bestimmt («Kasein-N»), und aus dem Filtrate nach dessen Verdünnen mit Wasser mittelst Gerbsäure oder Phosphorwolframsäure ein Niederschlag ausgeschieden, dessen Stickstoffmenge das «Albumin-N» ausdrückt.

I. 4,180 gr. Kaseinlösung enthalten 0,01862 gr. N, ɔ: 0,445 %.
5,742 » Albuminlösnng » 0,01316 » » ɔ: 0,229 »

Beim Mischen von 20 cbcm. Kaseinlösung mit 30 cbcm. Albuminlösung wurde also eine Lösung erhalten mit im

Ganzen **0,316 %** N, und speciell **0,174 %** Kasein-N und **0,138 %** Albumin-N.

1. 10,125 gr. Lösung gaben im Magnesiumsulfat-Niederschlag 0,01876 gr. N, ɔ: **0,185 %** Kasein-N; und im Filtrate wurden mit Gerbsäure 0,01428 gr. N, ɔ: **0,142 %** Albumin-N gefällt; also im Ganzen **0,317 %**.
2. 10,180 gr. Lösung gaben im Niederschlage mit Magnesiumsulfat 0,01750 gr., ɔ: **0,172 %** Kasein-N; und im Filtrate hiervon fällte Gerbsäure 0,0151 gr., ɔ: **0,151 %** Albumin aus, also im Ganzen **0,323 %** N.

II. 4,862 gr. Kaseinlösung enthielt 0,01610 gr. N, ɔ: 0,331 %.
10,193 » Albuminlösung » 0,00686 » » ɔ: 0,067 »

Durch Mischen gleicher Raumtheile dieser beiden Lösungen wurde eine Lösung mit **0,200 %** Total-Stickstoff, **0,166 %** Kasein-N und **0,034 %** Albumin-N erhalten.

9,780 gr. Lösung wurden mit Magnesiumsulfat gefällt; der Niederschlag enthielt 0,01568 gr., ɔ: **0,160 %** Kasein-N. Im Filtrate wurde mit Phosphorwolframsäure eine Fällung erhalten, worin 0,0042 gr. N, ɔ: **0,043 %** Albumin-N. Im Ganzen also **0,203 %** N gefunden.

Die Trennung der beiden Eiweisskörper zeigte sich somit als möglichst vollständig, und die Uebereinstimmung zwischen den gefundenen und berechneten Werthen ist so vollständig, als man nach sorgfältig ausgeführten quantitativen Analysen erwarten kann.

In diesem Zusammenhange müssen wir noch ein Verhalten berühren, welches in den letzten Jahren von Duclaux[1]) hervorgehoben ist, und welches, wenn es wirklich von der Art ist, wie dieser Verfasser es angiebt, die ganze oben entwickelte und begründete Trennungsmethode der beiden wesentlichsten Eiweisskörper der Milch vernichten würde.

Duclaux stellt (l. c., S. 31) die beiden Fragen auf:

1. Enthält der mit Magnesiumsulfat hervorgebrachte Niederschlag sämmtliches Kasein der Milch? und
2. Enthält dieser Niederschlag ausser dem Kasein keine andere Eiweisssubstanz?

Die erstere dieser Fragen beantwortet Duclaux mit einem Nein! «car le liquide filtré, chauffé pour séparer l'albu-

---

1) Duclaux, Le lait. Paris 1887.

mine, filtré à nouveau, et additionné d'une goutte d'acide acétique donne encore un dépôt floconneux». Die oben angeführten (S. 163—164) Versuche, welche mit reinem Kasein angestellt wurden, zeigen hinreichend, dass die Ausfällung vollständig ist, und wenn Duclaux nichtsdestoweniger Kasein im Filtrate wiederfindet, so mag dies darin liegen, dass er vielleicht bei Anwendung von krystallisirtem Magnesiumsulfat in trockner Form keine vollständige Sättigung erhalten hat. Die lufttrockenen Krystalle lösen sich verhältnissmässig langsam in der Milch, weshalb man viel rascher das Ziel erreicht bei Anwendung des halbflüssigen Krystallbreis. Eher ist doch vielleicht die Ursache darin zu suchen, dass Duclaux nicht mit reinen Kaseinlösungen, sondern mit Milch experimentirte, und da das Albumin nicht vollständig durch Coagulation in Siedehitze zu entfernen ist, und es nicht in Duclaux's Schrift angegeben ist, dass er das Filtrat vom Magnesiumsulfat-Niederschlage mit Wasser verdünnt hat, so wird der geringe Eiweissrest, welcher nach der Coagulation zurückbleibt, einen Niederschlag mit Essigsäure in der salzgesättigten Lösung hervorbringen. Es ist dies indessen kein Kriterium auf Kasein, sondern eine Reaction, welche nicht nur allen eigentlichen Eiweisskörpern, sondern auch den Albumosen zukömmt.

Die andere der oben genannten Fragen beantwortet Duclaux bejahend: «car si on le redissout dans l'eau, on obtient un liquide opaque comme du lait, passant bien au travers des filtres, et se troublant abondamment avant l'ébullition comme les liquides albumineux. Si même on a ajouté assez d'eau pour que le volume soit égal à peu près à deux fois et demie le volume du lait primitif, cette dissolution, qui, d'après l'hypothèse acceptée plus haut, ne devrait renfermer que de la caséine, se trouble à 60° comme l'albumine, et abandonne la presque totalité de ce qu'elle renfermait» (l. c.).

Obgleich ich in meiner früheren Arbeit gezeigt habe, dass das Laktalbumin durchaus nicht durch Sättigen seiner Lösungen mit Magnesiumsulfat gefällt wird[1]), und dass Kasein-

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1885, Bd. IX, S. 456.

lösungen, selbst wenn sie nicht ganz rein sind, nicht durch Erhitzen zur Siedetemperatur zum Coaguliren zu bringen sind, wenn die Lösung bis 10% Kochsalz enthält, so erschien mir doch die Bestimmtheit, womit Duclaux seine Erfahrungen hervorhebt, von so grossem Gewicht, dass es untersucht zu werden verdiente, ob vielleicht das Magnesiumsulfat in dieser Beziehung eine andere Wirkung als das Kochsalz habe. Es liess sich ja auch denken, dass wenn man, wie Duclaux, statt mit reinen Kaseinlösungen, mit Milch experimentirt, könne die Spur von Laktoglobulin, die in der Milch vorhanden ist, und die vom Magnesiumsulfate mit dem Kasein zusammen gefällt wird, beim Erhitzen der wässerigen Lösung des Niederschlages eine Coagulation hervorrufen. Diese letztere Annahme war doch nur sehr wenig wahrscheinlich, denn die Laktoglobulinmenge der Milch ist kaum grösser als die Globulinmenge, welche bei meinen in 1885 beschriebenen Coagulationsversuchen mit Kasein, welches mit Blutserumbestandtheilen verunreinigt war, gegenwärtig war. Die von Duclaux beschriebene Coagulation scheint indessen ganz bedeutend zu sein und nicht nur auf einer blossen Spur von Eiweiss zu beruhen.

Versuche, welche angestellt wurden mit Lösungen von Kasein, welches mit Magnesiumsulfat aus einer Lösung von reinem säurefreiem Kasein in einer minimalen Alkalimenge ausgesalzen war, gaben jedoch ebenso wenig eine Coagulation wie die früheren Versuche mit kochsalzhaltigen Lösungen; bei beträchtlicher Salzmenge trat zwar eine Trübung der Flüssigkeit ein, aber es war nie eine Spur von Coagulation, und nach dem Abkühlen war die Flüssigkeit wieder ganz klar.

Ich habe danach wiederholt versucht, völlig süsse (d. h. nicht gesäuerte) Milch sowohl mit Kochsalz wie mit Magnesiumsulfat zu sättigen, nachdem die Milch erst mit dem doppelten Volumen der betreffenden Salzlösung verdünnt war. Die Fällung wurde abfiltrirt und mehrere mal mit gesättigter Salzlösung gewaschen, danach von dem Filtrum abgeschabt und zugleich mit dem anhängenden Salzüberschusse in so viel Wasser gelöst, dass die Lösung ungefähr zwei und ein halbes

mal so viel wie das Volumen der Milch ausmacht. Nach Filtriren von dem zurückbleibenden Fette bekömmt man eine mehr oder weniger opalisirende, aber sonst klare Flüssigkeit, die aber nicht mal durch heftiges Kochen zur Coagulation gebracht werden konnte. Dagegen erschien, schon bedeutend unter der Siedehitze, aber sonst verschieden nach dem Salzgehalte, eine starke Trübung; die Flüssigkeit wird milchweiss und total undurchsichtig, aber beim Abkühlen klärt sie sich wieder auf; höchstens findet sich am Boden des Reagirgläschens etwas sandartiger Bodensatz, welcher wahrscheinlich der Einwirkung des vorhandenen Kochsalz auf das Kasein zuzuschreiben ist, welcher aber nie mit einem flockigen Eiweisscoagulum verwechselt werden kann.

Ist die Milch dagegen sauer geworden, so wird man möglicherweise beim Sättigen mit Salz ausser dem Kasein auch eine Ausscheidung von etwas Laktalbumin bekommen. Jedoch war ein solches Coagulum, das in dieser Weise aus einer Milch erhalten war, welche zwar einen Tag alt war, aber doch nur eine schwach saure Reaction angenommen hatte, so unbedeutend, dass es leicht übersehen werden konnte, und jedenfalls nicht mehr wie eine Spur ausmachte. Es ist mir dann kein anderer Grund zu dem Unterschiede zwischen den Beobachtungen des französischen Forschers und den meinigen übrig, als die Annahme, dass Duclaux nach dem Aussalzen des Kaseins aus der Milch nicht das Laktalbumin durch Waschen mit einer gesättigten Salzlösung genügend entfernt hat. Namentlich wenn man unterlässt, die Milch vor dem Hinzufügen des festen Salzes einige male zu verdünnen, wird der unausgewaschene Niederschlag leicht so viel Albumin enthalten, dass man bei Ausführung des Coagulationsversuches in oben beschriebener Weise eine deutliche Ausscheidung von coagulirten Eiweissflocken, die nicht wieder beim Abkühlen der Flüssigkeit verschwinden, bekommen kann.

Die Berechtigung der Benutzung des Magnesiumsulfats zur quantitativen Trennung des Kaseins und Albumins der Milch scheint nach den jetzt angeführten Thatsachen ein-

leuchtend zu sein. Betreffend der Form, wonach die Bestimmung geschieht, so ist hier in noch höherem Grade als bei der Bestimmung des Totaleiweisses die indirecte Bestimmungsweise durch die Stickstoffmenge der Niederschläge, die also den «Kasein-Stickstoff» und den «Albumin-Stickstoff» liefert, den Wägungen der Niederschläge vorzuziehen. Was das Kasein betrifft, geht dieses schon aus dem oben, S. 164, Anm., Gesagten hervor; für das Albumin ist es eine Folge theils aus der inconstanten Zusammensetzung der Fällungen mit Gerbsäure und Phosphorwolframsäure, theils aus der unvollständigen Ausfällung durch Coagulation in Hitze. Es liess sich freilich der grösste Theil des Albumins durch Erhitzen coaguliren, und nach Bestimmung dieses Niederschlages durch Wägung und Einäschern konnte man den Rest aus dem Filtrat mit einem der vollständigeren Eiweissfällungsmittel ausfällen und durch den Stickstoffgehalt bestimmen. Dabei bekömmt man aber nur vergrösserte Mühe und kaum grössere Genauigkeit, so lange man nicht weiss, ob der bei der Coagulation ungefällte Rest wirklich Albumin ist, oder vielleicht eher ein mit dem Molkenprotein analoges Zersetzungsproduct des Laktalbumins mit einem Stickstoffgehalt, der von dem des letzteren bedeutend abweicht.

4. Die Eiweisskörper des Colostrums.

Es wird nicht ohne Bedeutung sein, mittelst der im vorigen Abschnitte begründeten Methode das Colostrum, dieses sowohl in physiologischer wie in milchtechnischer Hinsicht so interessante Product, das so bedeutend von normaler Milch abweicht, einer näheren Untersuchung mit Hinsicht auf die darin enthaltenen Eiweisskörper zu unterwerfen. Die Literatur enthält die meist variirenden und gegenseitig streitenden Angaben über die Zusammensetzung des Colostrums.

Einige Verfasser, wie Grotenfelt[1]), sprechen dem Colostrum vollständig jeden Gehalt an Kasein ab und schreiben den

---

[1]) Handledning i mejerihushållning, Stockh. 1881, S. 32. — 2dra uppl., 1886, S. 29.

ganzen Eiweissgehalt auf das Conto des Albumins. König[1]) führt als Mittelwerth einer Menge übrigens sehr heterogenen Analysen von Colostrum 4,65 % Kasein und 13,62 % Albumin an. Bei Fleischmann[2]) finden wir als Durchschnitt für Colostrum der ersten Melkung einen Gehalt von 7,3 % Kasein und 7,5 % Albumin angegeben. Eugling[3]) führte selbstständige Analysen von Colostrum erster Melkung von einer ziemlich grossen Anzahl Kühen aus, und fand die Kaseinmenge zwischen 2,64—7,14 %, die Albuminmenge zwischen 11,18—20,21 % variirend. Hansen und Schrodt[4]) fanden einmal im Colostrum 7,57 % Kasein und 5,45 % Albumin, und ein andermal 3,79 % Kasein und 0,04 % Albumin.

Die meisten Verfasser sind also über das Vorhandensein des Kaseins im Colostrum einig, und die Vermuthung Grotenfelt's beruht wahrscheinlich nur darauf, dass die Colostralmilch nicht unmittelbar durch Lab zu verkäsen ist. Uebrigens hat schon Eugling (l. c.) gezeigt, dass das Colostrum nach passender Verdünnung mit Wasser durch Lab dick gelegt werden kann, und ich selbst habe Gelegenheit gehabt, aus Colostrum nach Hammarsten's gewöhnlicher Methode Kasein zu präpariren (doch wird hierbei etwas mehr Essigsäure zur Ausfällung des Kaseins als bei gewöhnlicher Milch erfordert), und mich von seiner Identität mit dem gewöhnlichen Milchkasein überzeugt[5]).

Obgleich keine besondere Uebereinstimmung zu erwarten ist in den Analysen eines Secretes, das an und für sich so verschiedenartig ist wie das Colostrum, so darf man doch vielleicht wagen, zum grossen Theil die Ursache zu den bedeutenden Nichtübereinstimmungen zwischen den genannten älteren Analysen darin zu suchen, dass dieselben oft nach höchst unvollkommenen, oft nicht einmal näher beschriebenen

---

1) Nahrungs- u. Genussmittel, 2. Aufl., II. Bd., S. 257.

2) Handbuch des Molkereiwesens, S. 56.

3) Petersen's Forschungen a. d. Gebiete d. Viehhaltung, Bd. I, 1878, S. 92.

4) Landwirthschaftl. Versuchsstationen, 1885, Bd. XXXI, S. 74 u. 75.

5) Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1885, Bd. IX.

Methoden ausgeführt wurden. Der Zweck mit den jetzt darzulegenden Analysen ist keineswegs, eine normale Durchschnittszusammensetzung für Colostrum zu geben, denn dieselbe wird sicherlich ganz ausserordentlich variiren, sowohl mit der Individualität, der Rasse, dem Klima und der Fütterung, sondern es wird nur beabsichtigt, einige zuverlässige Beispiele zu geben, wie der Eiweissgehalt des Colostrums beschaffen sein kann. Es lag zugleich nahe, zu untersuchen, ob nicht ein Theil der grossen Eiweissmenge, welche in den älteren Analysen als Albumin aufgeführt ist, vielleicht eher einem anderen Eiweisskörper, speciell dem Globulin zugehörig sei.

Eugling[1]) fand bei seinen Untersuchungen ca. 0,3 % Globulin beim Fällen der Molken von dem mit Wasser verdünnten und mit Lab coagulirten Colostrum mit einem Kohlensäurestrom, und ich selbst habe früher rein qualitativ geschätzt, dass das Globulin im Colostrum in etwas grösserer Menge als in gewöhnlicher Milch vorhanden ist[2]). Vielleicht mag das von Eugling gefundene Resultat zu niedrig sein, denn das Globulin wird, wie bekannt, nur sehr unvollständig durch Verdünnen mit Wasser und Durchleiten von Kohlensäure gefällt; doch wäre es auch möglich, dass der Niederschlag Eugling's zum Theil aus einem Rest von Kasein und Parakasein, welches bei der Sättigung unausgefällt blieb, bestehe und also zu hoch wäre. Leider scheint es nicht möglich, absolute Bestimmungen des Globulins zu bekommen, so lange man vollständige Trennungsmethoden zwischen dem Kasein und Globulin entbehren muss. Jedoch wird schon der Minimalwerth, den man bekömmt, wenn man erst alles Kasein nebst einem Theil des Globulins durch Sättigen mit Kochsalz ausscheidet, und darauf den Rest des Globulins durch Sättigen des Filtrats mit Magnesiumsulfat fällt und für sich bestimmt, eine weit grössere Globulinmenge zeigen, als nach dem früher Bekannten zu erwarten war.

---

1) L. c., S. 96.
2) Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1885, Bd. IX.

1. Colostrum 2ter Melkung. 12./3. 1887.

Die Total-Stickstoffmenge wurde in 3,079 gr. Milch zu 0,03794 gr., ɔ: **1,232 %** N bestimmt.

10,180 gr. Milch wurden mit 2 Volumina gesättigter Magnesiumsulfatlösung verdünnt und dann mit Sulfat in Substanz gesättigt. Die Fällung enthielt 0,09044 gr. N, ɔ: **0,887 %**, der totalen Kasein- und Globulinmenge angehörend.

Das Filtrat hiervon wurde nach Verdünnen mit Gerbsäure gefällt und lieferte hierbei 0,0126 gr. N, ɔ: **0,124 %** Albumin-Stickstoff.

10,235 gr. Milch wurden mit dem doppelten Volumen gesättigter Kochsalzlösung verdünnt und mit Kochsalz in Substanz gesättigt. Das Filtrat vom hierdurch entstehenden Niederschlage wurde mit Magnesiumsulfat gesättigt und im Niederschlage hiermit wurden gefunden 0,01022 gr. N, ɔ: **0,100 %** Globulin-Stickstoff.

Das Filtrat hiervon wurde mit Wasser verdünnt und mit Gerbsäurelösung gefällt, der Niederschlag enthielt 0,1414 gr. N, ɔ: **0,138 %** Albumin-Stickstoff, von der vorigen Bestimmung nicht sehr abweichend.

Es liess sich denken, dass eine mehr vollständige Trennung des Globulins vom Kasein durch eine wiederholte Lösung der Kochsalzfällung in Wasser und wiederholte Ausfällung mit Salz in Substanz zu erhalten wäre, wobei denn das Kasein stets vollständig, das Globulin dagegen nur partiell auszufällen wäre. Wegen der nahen Uebereinstimmung aber, welche in fast allen Löslichkeitsverhältnissen zwischen dem Laktoglobulin und dem Serumglobulin besteht, wird dieses doch kaum gelingen; denn wie bekannt[1]), geht das Globulin durch solches wiederholtes Lösen und Ausfällen leicht in eine Modification über, die sich durch grössere Fällbarkeit auszeichnet und namentlich ebenso wie das Kasein durch Kochsalz vollständig gefällt wird.

Dagegen liess es sich vielleicht eher erwarten, eine einigermassen approximirte Maximalbestimmung des Globulins zu erhalten, durch eine besondere Stickstoffbestimmung des Kaseins, welches man mittelst Essigsäure aus dem mit Wasser verdünnten Colostrum ausfällen kann, und durch die Subtraction dieses Resultates von der ganzen mit Magnesiumsulfat fäll-

---

[1]) Hammarsten in Pflüger's Archiv, Bd. XVIII, S. 55.

baren Stickstoffmenge; der Unterschied zwischen diesen beiden Stickstoffbestimmungen würde dann am nächsten die Menge des Globulin-Stickstoffes angeben. Zwar wird das Globulin wie das Kasein von Essigsäure gefällt, aber die Säurequantität, welche zur Ausfällung dieser beiden Eiweisskörper erforderlich ist, ist so verschieden, dass das Globulin längst wieder im Säureüberschusse gelöst sein wird, wenn der grossflockige Kasein-Niederschlag sich zu bilden anfängt, wozu, wie schon genannt, besonders bei Colostralmilch ziemlich viel Essigsäure erforderlich ist (ca. 1 % Essigsäureanhydrid, gegen 0,075—0,1 % bei normaler Milch). Indessen ist ja die Ausfällung des Kaseins durch Säure lange nicht vollständig, und hier, bei Colostrum, wird wahrscheinlich sowohl die grosse Salzmenge wie die grosse Säuremenge bewirken, dass die Ausfällung sehr unvollständig wird.

2. Colostrum 1ster Melkung. 29./3. 1887.

2,123 gr. Milch enthielten 0,0532 gr., ɔ: 2,506 % Total-Stickstoff.

Beim Fällen von 3,260 gr. Milch mit Gerbsäure wurden im Niederschlage 0,07406 gr, N, ɔ: 2,269 % Eiweiss-Stickstoff erhalten.

Zur Bestimmung des Kaseins mit Essigsäure wurden 10,070 gr. Milch verwendet, welche in der Fällung 0,05642 gr. N, ɔ: 0,56 % Kasein-Stickstoff gaben.

Die gesammelte Menge von Kasein- und Globulin-Stickstoff wurde aus 5,272 gr. Milch mit Magnesiumsulfat ausgefällt und machte 0,1064 gr. N, 2,02 % aus.

Man erhält also hier als Maximalwerth 2,02 ÷ 0,56 = 1,46 % Globulin-Stickstoff.

Das Filtrat von der Fällung mit Magnesiumsulfat wurde mit Gerbsäure gefällt, und hierbei 0,01330 gr. N, ɔ: 0,252 % Albumin-Stickstoff erhalten.

Ein Minimalwerth für das Globulin im selben Colostrum wurde gefunden beim Sättigen von 5,917 gr. Milch, die mit zwei Volumen Kochsalzlösung verdünnt war, mit Kochsalz in Substanz. Das Filtrat hiervon gab bei der Fällung mit Magnesiumsulfat 0,01470 gr. N, ɔ: 0,248 % Globulin-Stickstoff.

Das Filtrat hiervon wurde, nach Verdünnen mit Wasser, mit Phosphorwolframsäure gefällt, wobei 0,01470 gr. N, ɔ: 0,248 % Albumin-Stickstoff, mit der vorigen Albuminbestimmung übereinstimmend, gefunden wurde.

Obgleich die Grenzen für die Menge des Globulin-Stickstoffes freilich sehr bedeutend sind, so zeigen sie doch, dass das Globulin hier im Colostrum in weit grösserer Menge vorhanden ist, als man bisher geglaubt hat; selbst die niedere Grenze würde einem Globulingehalte von 1,58% (ɔ: Stickstoff × 6,37) entsprechen. Dass ausserdem die Kochsalzfällung wirklich eine bedeutende Menge Globulin enthält, und nicht gänzlich aus Kasein besteht, erwies sich dadurch, dass, nach Auspressen der meisten Salzlauge aus dem mit Salzlösung ausgewaschenen Niederschlage zwischen Filtrirpapier, die Lösung desselben in Wasser, nach Abfiltriren von ungelöstem Fett, beim Erhitzen eine starke Coagulation von Globulin gab. Wie im vorigen Abschnitte gesagt, kann die Lösung einer ausgewaschenen Kochsalzfällung aus gewöhnlicher Milch kein solches Verhalten zeigen. Das Filtriren der Lösung der Kochsalzfällung in Wasser geht leider nur sehr langsam vor sich, und wahrscheinlich wird es gar nicht gelingen, die ganze Lösung zu filtriren, denn das Kasein scheint hier in derselben halb aufgequollenen Form vorzukommen, wie es in der Milch vorhanden ist, so dass es leicht auf dem Filtrum zurückbleibt. Man darf deshalb auch nicht auf eine quantitative Bestimmung des Globulins durch Coagulation der genannten Lösung hoffen, welches sonst nahe zur Hand gelegen hätte.

Um indessen einen Versuch zu machen und mir daraus einen ungefähren Begriff von der in der Kochsalzfällung vorhandenen coagulablen Eiweissmenge zu machen, wurde in dem folgenden Versuche die Kochsalzfällung in Wasser gelöst und zu 120 cbcm. aufgefüllt, wonach 60 cbcm. von dem Filtrate durch Erhitzen (natürlich ohne Säurezusatz!) coagulirt wurden. Das Coagulum, welches sich klar und gut absetzte, wurde abfiltrirt und nach Auswaschen zur Sticksoffbestimmung benutzt.

3. Colostrum 2[ter] Melkung. 5./5. 1887.

Total-Stickstoff: 2,091 gr. Milch gaben 0,0518 gr. N, ɔ: 2,566%.

4,039 gr. Milch gaben in dem Niederschlag mit Gerbsäure 0,0994 gr. N, ɔ: 2,461% Eiweiss-Stickstoff, wonach das Filtrat noch 0,00350 gr. N, ɔ: 0,086% Stickstoff enthielt. Die Summe macht 2,547% aus.

Im Kasein-Niederschlage mit Essigsäure zeigten 5,035 gr. Milch 0,02744 gr. N, ɔ: **0,534** % Kasein-Stickstoff.

Aus 5,576 gr. Milch wurde die gesammte Kasein- und Globulinmenge durch Magnesiumsulfat gefällt, und hierin 0,11970 gr. N, ɔ: **2,147** % Stickstoff gefunden.

Die Differenz zwischen dieser und der vorigen Bestimmung ergiebt **1,613** % Globulin-Stickstoff als Maximalwerth.

Die Albuminmenge wurde in diesem Falle nicht besonders bestimmt, sondern aus den übrigen Ziffern zu **0,314** % Albumin-Stickstoff berechnet.

Beim Sättigen von 5,448 gr. Milch mit Kochsalz in Substanz in gewöhnlicher Weise, und Fällen des Filtrates hiervon mit Magnesiumsulfat, wurden im letzteren Niederschlage 0,01092 gr. N, ɔ: **0,200** % Globulin-Stickstoff als Minimalwerth erhalten.

Auch der Kochsalz-Niederschlag wurde in oben beschriebener Weise untersucht, und die darin enthaltene coagulable Eiweissmenge durch 0,03822 gr. N in dem halben Filtrate bestimmt. Unter der Voraussetzung, dass die Zusammensetzung des Filtrats in dieser Hinsicht ganz hindurch homogen ist, bekömmt man also im Ganzen 0,07644 gr., ɔ: **1,404** % Globulin-Stickstoff.

Merkwürdiger Weise stimmt die Summe von den Stickstoffmengen dieser beiden Globulinfällungen (1,404 + 0,200 = 1,604 %) so gut wie vollständig mit dem oben als Differenz bestimmten Maximalwerth (1,613 %). Doch wage ich nicht, dies anders als eine Zufälligkeit zu betrachten, denn namentlich die Operationen mit der Kochsalzfällung sind nicht von der Art, dass sie sich für eine genaue quantitative Methode eignen.

4. Colostrum 1ster Melkung. 22./5. 1887.

2,060 gr. enthielten 0,04578 gr. N, ɔ: **2,222** % Total-Stickstoff.

Aus 5,223 gr. Milch wurde das Kasein mit Essigsäure gefällt; es wurden in der Fällung 0,03752 gr. N, ɔ: **0,718** % Kasein-Stickstoff erhalten.

5,105 gr. Milch gaben im Niederschlage mit Magnesiumsulfat 0,09716 gr. N, ɔ: **1,903** % Kasein- und Globulin-Stickstoff. Also als Differenz **1,185** % Globulin-Stickstoff.

Aus dem Filtrate von der Magnesiumsulfatfällung schlug Gerbsäurelösung 0,00934 gr. N nieder, ɔ: **0,183** % Albumin-Stickstoff.

5,281 gr. Milch wurden mit Kochsalz gefällt. Diese Fällung zeigte, nach Lösen in Wasser und Filtriren von ungelöstem Fett, beim

Erbitzen eine reichliche Coagulation, deren Grösse doch nicht quantitativ bestimmt wurde. Das Filtrat von der Kochsalzfällung wurde darauf mit Magnesiumsulfat gefällt, und in diesem Niederschlage wurden 0,01582 gr. N, ɔ: **0,300** % Globulin-Stickstoff als Minimumswerth gefunden. Aus dem Filtrate hiervon schied Gerbsäure 0,00966 gr. N, oder **0,183** % Albumin-Stickstoff aus. Die letztere Bestimmung stimmt vollständig mit der vorigen Albuminbestimmung überein.

In dem Filtrate von der Gerbsäurelösung von 5,082 gr. Colostrum fanden sich noch 0,00381 gr. oder **0,076** % nicht-eiweissartiger Stickstoff.

Man hat also:

Total-Stickstoff	= 2,222 %
Nicht-Eiweiss-Stickstoff	= 0,076 »
	2,146 %
Kasein- und Globulin-Stickstoff .	= 1,903 %
Albumin-Stickstoff	= 0,183 »
	2,086 %

Es ist also im Ganzen ein Fehler von 0,06 % Stickstoff auf die vier Analysen zu vertheilen.

5. Colostrum 1ster Melkung. 10./9. 1887.

2,660 gr. Milch enthielten 0,02912 gr. N, ɔ: **1,10** % Total-Stickstoff.

Der gesammte Kasein- und Globulin-Stickstoff wurde in 3,284 gr. Milch durch Fällen mit Magnesiumsulfat bestimmt, und es wurden hierbei 0,02352 gr. N, ɔ: **0,716** % solcher Stickstoff gefunden.

Ausserdem wurde aus 5,184 gr. Milch mittelst Essigsäure das Kasein niedergeschlagen und hierin 0,02856 gr. N, ɔ: **0,55** % Kasein-Stickstoff gefunden. Für den Globulin-Stickstoff ergiebt sich also im Maximum **0,166** % N.

Die niedere Grenze des Globulin-Stickstoffes wurde erhalten durch Fällen von 5,200 gr. Milch mit Kochsalz und darauf folgende Sättigung des Filtrates mit Magnesiumsulfat. Die letztere Fällung enthielt 0,0042 gr. N, ɔ: **0,081** % Globulin-Stickstoff.

Die in beschriebener Weise untersuchten Proben von Colostralmilch stammten von Kühen des hiesigen landwirthschaftlichen Institutes, zum grössten Theile Ayrshire Rasse, jedoch nicht rein, aber mehr oder weniger mit Blut schwedischer Gebirgsrasse, sogenannter Landrasse, und Shorthorn gekreuzt.

Die analytischen Resultate sind in der nachfolgenden Uebersicht tabellarisch zusammengestellt.

	I. Total-Stickstoff.	II. Eiweiss-Stickstoff.	III. Mit $MgSO_4$ fällbarer Stickstoff.	IV. Kasein-Stickstoff (approx.).	V. Globulin-Stickstoff (approx.).	VI. Albumin-Stickstoff.	VII. Nicht-eiweiss-artiger Stickstoff.
1.	1,232	1,025[1])	0,887	—	0,100	0,138	0,207[2])
2.	2,506	2,269	2,02	0,56	0,248 / 1,46	0,250	0,237[2])
3.	2,566	2,461	2,147	0,534	1,604 / 1,613	0,314[3])	0,086
4.	2,222	2,086[1])	1,903	0,718	0,300 / 1,185	0,183	0,076
5.	1,10	—	0,716	0,55	0,081 / 0,166	—	—

Es geht aus dieser Uebersicht hervor, dass die Zusammensetzung des Colostrums mit Hinsicht auf die Eiweisskörper grossen Schwankungen unterworfen ist. Die Kaseinmenge war stets etwas grösser als in normaler Milch. Die Albuminmenge variirte zwischen Werthen, welche nur etwas über dem Normalen lagen (1), bis ca. das Dreifache hiervon, erreichte aber nie so colossale Werthe wie bei Eugling's Untersuchungen[4]). Man sieht weiter, dass das Globulin in allen untersuchten Fällen als ein wesentlicher Bestandtheil hervortritt, und obgleich bis jetzt noch keine absolut genaue Bestimmung dieses Körpers möglich war, so ist es doch im höchsten Grade wahrscheinlich gemacht, dass es wenigstens in ebenso grosser Menge wie das Laktalbumin auftritt, und dass es wahrscheinlicher Weise in gleich grossem Grade auf dem Vorkommen dieser beiden Eiweisskörper in einigermassen grosser Menge beruht, dass das Colostrum im Gegensatz zu gewöhnlicher Milch in der Wärme coagulirt und hierdurch eine in Schweden, Nor-

[1]) Aus III und VI berechnet.

[2]) Als Differenz von I und II berechnet.

[3]) Aus II und III berechnet.

[4]) Hiermit ist natürlich nicht gemeint, zu bestreiten, dass solche Werthe vorkommen können.

wegen und Finland allgemein genossene Speise («Kalb-Käse» genannt) liefert.

Aus der obigen Tabelle geht auch hervor, dass die Menge der nicht-eiweissartigen Bestandtheile der Colostralmilch deutlich grösser ist als wie in normaler Milch üblich (0,04—0,05% N). Wenn auch die hohen berechneten Ziffern der Beispiele 1—2 vielleicht auf einem Zusammenhäufen der Fehler der einzelnen Stickstoffbestimmungen beruhen können, so liefert doch andererseits die gegenseitige Uebereinstimmung, welche wir oft zwischen berechnetem und gefundenem Stickstoffgehalte gefunden haben, eine Art Garantie, dass diese Fehler keinen so besonders grossen Einfluss haben können; auch weisen die Werthe der Beispiele 3 und 4, die direct bestimmt wurden, in derselben Richtung.

Die obigen Studien wurden in 1885 mit Unterstützung öffentlicher dänischer Mittel im Laboratorium des Herrn Prof. O. Hammarsten in Upsala begonnen; die Methoden und Resultate wurden aber seitdem im chemischen Laboratorium des hiesigen höheren milchwirthschaftlichen Institutes theils neu geprüft, theils gänzlich umgearbeitet.

Milchwirthschaftliches Institut Ultuna pr. Upsala.

Ueber die Chinäthonsäure.

Von

Dr. Victor Lehmann.

(Mitgetheilt von A. Kossel.)

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 14. Juli 1888.)

Zu denjenigen Substanzen, welche beim Durchgang durch den thierischen Organismus mit Glykuronsäure gepaart werden, gehört auch das Phenethol. Nach Eingabe dieser Substanz findet sich im Harn eine Säure, die ich als Chinäthonsäure bezeichnet habe[1]. Herr Dr. Victor Lehmann hat es auf meine Veranlassung unternommen, die Untersuchung über die Constitution dieser durch eigenthümliche Doppelsalzbildung ausgezeichneten[2] Substanz fortzusetzen.

Aus der Neigung dieser Säure zur Bildung schwer löslicher Doppelverbindungen mit den Salzen gepaarter Schwefelsäuren ergiebt sich folgende Darstellungsweise derselben, welche zweckmässiger ist, als die früher angegebene. Der nach Fütterung von Phenethol gelassene Harn der Versuchsthiere wird eingedampft, darauf mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit Essigäther ausgeschüttelt. Der abgetrennte Essigäther wird mit überschüssigem kohlensauren Baryt versetzt und abdestillirt, der Rückstand mit Wasser zum Sieden erhitzt, heiss filtrirt und das Filtrat bis auf ein kleines Volumen eingedampft. Nach mehrtägigem Stehen krystallisiren die Barytdoppelsalze heraus. Dieselben werden abfiltrirt, aus Wasser

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 4, S. 296.

[2]) Diese Zeitschrift, Bd. 7, S. 292.

umkrystallisirt und in heissem Wasser gelöst. Zu der Lösung fügt man vorsichtig eine Lösung von neutralem schwefelsauren Kali, so lange noch ein Niederschlag von schwefelsaurem Baryt entsteht. Die vom Bariumsulfat abfiltrirte Flüssigkeit dampft man zur Trockne ein und extrahirt den Rückstand mit siedendem starken Alkohol. Die Kalisalze gehen in den Alkohol über. Das chinäthonsaure Kali krystallisirt aus der heiss filtrirten alkoholischen Lösung beim Erkalten aus, die Kalisalze der gepaarten Schwefelsäuren bleiben in Lösung und werden nach dem Abdestilliren des Alkohols gewonnen. Dieselben stellen ein Gemisch dar von solchen ätherschwefelsauren Salzen, die normalerweise im Harn auftreten, mit solchen, die aus dem gefütterten Phenethol gebildet sind. Zu den ersteren gehören Phenolschwefelsäure und Indoxylschwefelsäure, welch' letztere in beträchtlicher Menge aus dem Gemisch dargestellt wurde. Andererseits finden sich auch gepaarte Schwefelsäuren vor, welche aus dem gefütterten Phenethol hervorgegangen sind.

Dass eine Vermehrung der gepaarten Schwefelsäuren nach der Fütterung mit Phenethol stattfindet, wird durch folgenden Versuch gezeigt. In dem Harn eines Hundes wurde das Verhältniss der Gesammtschwefelsäure zur gepaarten Schwefelsäure festgestellt. Dasselbe betrug $\frac{0,3408}{0,0382} = 8,92$. Dem Thier wurden nun 12 gr. Phenethol einverleibt und die Schwefelsäure-Bestimmungen wiederholt. Das genannte Verhältniss betrug in diesem Fall $\frac{0,4270}{0,1558} = 2,74$.

Die im hiesigen Laboratorium ausgeführten Untersuchungen des Herrn Kühling[1]) haben dargethan, welches die aus dem Phenethol gebildete Aetherschwefelsäure ist. Kühling fand in dem Harn eine Säure von der Zusammensetzung $C_8H_{10}SO_5$, welche ihre Herkunft aus dem Phenethol $C_8H_{10}O$ leicht erkennen lässt. Kühling vermuthet, dass diese Säure aus dem Phenethol entstehe, indem ein Wasserstoffatom des

1) Kühling, Ueber Stoffwechselproducte aromatischer Körper. Inaug.-Diss. Berlin 1887.

Benzolringes durch die Gruppe —O—SO_3H ersetzt werde, dass derselben demgemäss folgende Constitution zukomme:

$C_6H_4 < \begin{matrix} OC_2H_5 \\ OSO_3H. \end{matrix}$ Diese Vermuthung findet in der Constitution der Chinäthonsäure, welche durch die nachfolgenden Untersuchungen des Herrn Lehmann klargelegt ist, eine Stütze, da die Chinäthonsäure eine analoge Consitution besitzt.

Die Untersuchungen waren zunächst darauf gerichtet, durch Analysen die Formel der Chinäthonsäure und ihrer Salze festzustellen.

Chinäthonsaures Silber. Herr V. Lehmann wiederholte zunächst die Darstellung des chinäthonsauren Silbers in der von mir beschriebenen Weise. Die Analyse dieses Salzes führte zu folgenden, mit meinen früheren Angaben übereinstimmenden Werthen:

	Gefunden			Berechnet für	
	Lehmann:	Kossel:		$C_{14}H_{17}O_9Ag$:	$C_{14}H_{19}O_9Ag$:
C	38,6	38,1	38,66	38,44	38,27
H	4,0	4,03	4,13	3,89	4,33

Chinäthonsaures Kali. Das aus Wasser krystallisirte Salz wurde von Herrn Dr. Scheibe krystallographisch untersucht, dessen gütiger Mittheilung ich die folgenden Angaben verdanke.

«Die wasserhellen, glänzenden Krystalle sind monoklin.
«Das Axenverhältniss ist:

$$a : b : c = 1{,}8 : 1 : 1{,}0675$$
$$\beta = 74^0\ 53'\ 45''$$

«Die Formen $\infty P\overline{\infty}$, oP, ∞P, $\infty P\overline{2}$, $-P\overline{\infty}$, $+P\overline{\infty}$,
«$P\grave{\infty}$, $-P$, $+P$, $+2P\grave{2}$ treten auf. Die Krystalle sind tafel-
«förmig nach $\infty P\overline{\infty}$ und zeigen deutlichen Blätterbruch nach
«dieser Fläche.»

Die Elementaranalyse führte zu folgendem Resultat:

	Gefunden:			Berechnet für	
	I.	II.	III.	$C_{14}H_{19}O_9K$:	$C_{14}H_{17}O_9K$:
C	45,1	45,4	—	45,41	45,65
H	5,4	5,3	—	5,13	4,62
K	—	—	10,4	10,54	10,60

Eine genauere Untersuchung des Kalisalzes ergab, dass die angenommenen Formeln aufzulösen sind, denn das Kalisalz verliert bei lange (ca. 8 Tage) fortgesetztem Trocknen bei 110° so viel Wasser, wie einem Molekül Krystallwasser entspricht.

	Gefunden:	Berechnet für $C_{14}H_{17}O_8K + H_2O$:
H_2O	4,66	4,87

Wenn man dieses Kalisalz aus absolutem Alkohol umkrystallisirt, so erhält man nadelförmige Krystalle, welche in ihrer Form der oberflächlichen Betrachtung nach völlig verschieden sind von den vorhin beschriebenen, aus Wasser anschiessenden Krystallen. Die ersteren sind sehr hygroskopisch, die letzteren nicht. Erstere entsprechen höchst wahrscheinlich der wasserfreien Verbindung $C_{14}H_{17}O_8K$.

	Gefunden:	Berechnet für $C_{14}H_{17}O_8K$:
K	10,89	11,07

Nach diesen bei der Untersuchung des Kalisalzes gewonnenen Resultaten ist es wahrscheinlich, dass auch das analysirte Silbersalz Krystallwasser enthält, dass die Zusammensetzung desselben entweder folgende sei: $C_{14}H_{15}O_8Ag + H_2O$ oder $C_{14}H_{17}O_8Ag + H_2O$. Welche von diesen beiden Formeln die richtige ist, lässt sich aus den Analysen nicht erkennen, da der Unterschied der berechneten Zahlenwerthe ein sehr geringer und den Versuchsfehlern nahestehender ist.

Freie Chinäthonsäure. Eine Aufklärung dieser Frage durfte von der Analyse der freien Chinäthonsäure erwartet werden.

Zur Darstellung derselben wurde das Kalisalz in Wasser gelöst, mit Schwefelsäure angesäuert und die Lösung mit Essigäther ausgeschüttelt, der Essigäther unter Zusatz von kohlensaurem Baryt abdestillirt. Das zurückbleibende Barytsalz wurde durch Schwefelsäure unter Vermeidung eines Ueberschusses vom Baryt befreit, aus dem eingedampften Rückstand krystallisirte die Säure heraus. Der Schmelzpunkt derselben liegt bei 146°.

Die Analysen der bei 110° getrockneten Substanz führten zu folgendem Resultat:

Gefunden:		Berechnet für	
I.	II.	$C_{14}H_{18}O_8$:	$C_{14}H_{16}O_8$:
53,53	53,12	53,50	53,85
6,01	5,84	5,73	5,13

Die für den Wasserstoff gefundenen Zahlen lassen die Formel $C_{14}H_{18}O_8$ als die richtige erscheinen[1]).

Spaltung der Chinäthonsäure. Die Versuche über die Spaltung der Chinäthonsäure durch Mineralsäuren bestätigen die angenommene Formel.

Mehrere Gramm der reinen Säure wurden zwei Stunden mit verdünnter Schwefelsäure am Rückflusskühler gekocht. Die Flüssigkeit trübte sich beim Abkühlen. Dieselbe wurde mit Aether ausgeschüttelt, der Aether nimmt ein gelbes Product auf, welches nach dem Abdestilliren desselben als Oel zurückbleibt. Nach kurzem Stehen wandelt sich dieses in eine krystallisirte Masse um, welche aus heissem Wasser leicht umkrystallisirt werden kann.

Die Analysen ergaben Folgendes:

Gefunden:		Berechnet für
I.	II.	$C_8H_{10}O_2$:
69,02	68,92	69,57
7,40	7,54	7,25

Die gefundene Formel unterscheidet sich von der des Phenethols durch den Mehrgehalt von einem Atom Sauerstoff. Es ist ohne Weiteres ersichtlich, dass dieses Spaltungsproduct der Chinäthonsäure aus einer Umwandlung des Phenethols hervorgegangen ist, während das in Aether nicht lösliche Product den beim Durchgang durch den Thierkörper angefügten Atomcomplex darstellt.

---

[1]) In meiner früheren Publication (l. c.) über die Chinäthonsäure habe ich eine Analyse mitgetheilt, aus der ich für die freie Säure die Formel $C_{14}H_{18}O_9$ ableitete. Die Analyse stimmt auch mit der Formel $C_{14}H_{20}O_9$ überein. Dieser Befund führt mich zu der Vermuthung, dass auch die freie Säure unter gewissen Verhältnissen mit einem Molekül Wasser krystallisirt.

Man muss die Frage aufwerfen, ob der in das Phenethol eingetretene Sauerstoff sich am Benzolkern befindet, oder ob er zur Oxydation der Aethylgruppe verwandt ist. Für diese Frage ist folgende von mir früher aufgefundene Thatsache entscheidend. Bei der Spaltung der Chinäthonsäure durch Jodwasserstoff bildet sich Hydrochinon, bei der Einwirkung von Oxydationsmitteln sehr leicht und in grosser Menge Chinon. Diese Reactionen beweisen, dass das aromatische Spaltungsproduct ein Derivat des Hydrochinons ist, dass ihm demgemäss folgende Constitution zukommt: $C_6H_4 < {OC_2H_5 \atop OH}$ (1,4). Diese Substanz: das Paraoxyphenethol oder der Aethyläther des Hydrochinons, wurde bereits von Wichelhaus[1]) und von Hantzsch[2]) dargestellt. Die Eigenschaften der von diesen Autoren beschriebenen Substanz stimmen, soweit ersichtlich, mit dem von uns erhaltenen Körper überein. Der Schmelzpunkt des Paraoxyphenethols liegt bei 66°, das aus Aether krystallisirte Spaltungsproduct der Chinäthonsäure schmolz bei 62—63°.

Die Constitution der Chinäthonsäure ist demnach folgende: $C_6H_4 < {OC_2H_5 \atop C_6H_9O_7}$.

---

1) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. 12, S. 1501.
2) Journal für practische Chemie, Bd. 22, S. 462.

Die physiologischen Wirkungen des Paraxanthins.

Von

Dr. Georg Salomon, Privatdocenten in Berlin.

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Institutes zu Berlin.)
(Der Redaction zugegangen am 21. Juli 1888.)

Zu der toxikologischen Prüfung des Paraxanthins wurde ich durch Filehne's Mittheilungen[1]) über die giftigen Eigenschaften des Theobromins veranlasst. Filehne berichtet über diesen von den neueren Forschern noch wenig beachteten Körper, dass er auf den Organismus des Frosches ähnlich wirke wie das Caffeïn, nämlich die Functionen des Centralnervensystems störe und unabhängig davon durch periphere Einwirkung die Skelettmusculatur starr und gebrauchsunfähig mache. Die centrale Läsion, die sich beim Caffeïn bekanntlich als Tetanus äussert, erscheint beim Theobromin als primäre, mit motorischen Lähmungen verbundene Herabsetzung der Reflexerregbarkeit; die Muskelveränderung ist genau dieselbe wie beim Caffeïn. Die gleichen Giftwirkungen wie durch Theobromin erzielt man durch Xanthin, und zwar kommen diesem bei gleicher Dosis noch stärkere Effecte zu wie dem Theobromin, während das Caffeïn in dieser Beziehung hinter beiden Körpern zurücksteht. Da nun nach Emil Fischer's Untersuchungen[2]), an die Filehne's Arbeit sich anschliesst,

---

[1]) «Ueber einige Wirkungen des Xanthins, des Caffeïns und mehrerer mit ihnen verwandter Körper.» Arch. f. Anat. u. Physiol., Phys. Abth., S. 72—91, 1886.

[2]) Annalen der Chemie, Bd. 215, H. 3. «Ueber Caffeïn, Theobromin, Xanthin und Guanin.»

das Theobromin als Dimethylxanthin, das Caffeïn als Trimethylxanthin aufzufassen ist, so glaubt Filehne dem Eintritt der Methylgruppen in das Xanthinmolecül eine entsprechende Verminderung seiner toxischen Eigenschaften zuschreiben zu müssen. Dem widersprechen allerdings die Erfahrungen von Paschkis und Pal[1]), die den Ablauf der Zuckungscurve des Froschschenkels bei Weitem am stärksten durch Caffeïn, weniger durch Theobromin und noch weniger durch Xanthin beeinflusst fanden.

In erster Linie bestimmte mich die Isomerie des Theobromins und Paraxanthins, letzteres am Organismus des Frosches zu versuchen. Nebenbei kam aber noch in Betracht, dass von gut charakterisirten basischen Producten des normalen Stoffwechsels bisher nur zwei als giftig erkannt worden sind, nämlich das Xanthin und das von A. Gautier[2]) im Rindfleisch entdeckte Xanthokreatinin. Auch von diesem Standpunkt aus schien das Paraxanthin, als ein krystallisirender Bestandtheil des normalen menschlichen Urins, bezüglich seiner physiologischen Wirkung Beachtung zu verdienen.

In der Zahl und Mannichfaltigkeit der Experimente musste ich mir eine gewisse Beschränkung auferlegen, weil mein Vorrath an Paraxanthin nur spärlich und eine neue Darstellung nicht ohne Weiteres zu ermöglichen war. Insbesondere musste ich es mir versagen, auf die Unterschiede im Verhalten der R. esculenta und R. temporaria einzugehen, die von Schmiedeberg[3]) zuerst bei der Caffeïnvergiftung beobachtet und von Filehne auch für das Theobromin bestätigt worden sind. Immerhin habe ich eine hinlängliche Anzahl von Versuchen angestellt, um wenigstens für die Esculenta das Bild der Paraxanthinvergiftung mit ziemlicher Sicherheit entwerfen zu können.

---

1) Wiener med. Jahrbücher, 1886.

2) Sur les alcaloïdes dérivés de la destruction bactérienne ou physiologique des tissus animaux. Extrait du Bull. de l'acad. de méd. 12 et 19 janvier 1886.

3) Arch. f. exp. Pathol., Bd. II, S. 62.

Wie beim Xanthin, Theobromin und Caffeïn kann man auch beim Paraxanthin eine centrale und eine periphere (musculäre) Wirkung unterscheiden. Beide gehen neben einander her, gestalten sich aber je nach der Applicationsweise des Giftes verschieden. Kommt die Muskelsubstanz mit dem Paraxanthin in unmittelbare Berührung, so erstarrt sie fast sofort zu bedeutender Härte. Wenn man z. B. 1—2 mgr. Paraxanthin, mit einer Spur Natronlauge in Wasser gelöst, in die Oberschenkelmusculatur einer Esculenta einspritzt, so stellt sich das verletzte Bein je nach der Muskelgruppe, die getroffen ist, in Abduction, in Extension oder auch rechtwinklig zur Längsaxe des Körpers. In solcher abnormen Stellung wird das Bein nachgeschleppt; höchstens betheiligt sich der Unterschenkel, der wenigstens anfänglich ganz weich bleibt, an der Fortbewegung. Frühzeitig untersucht zeigen die getroffenen Muskeln ein trübes, weissliches Aussehen und eine stark verminderte Erregbarkeit, die sehr bald auf Null herabsinkt.

Hat man die Dosis des Paraxanthins gering gewählt, so sieht man bei kräftigen Thieren die Starre des Beins langsam abnehmen und die Körperhaltung, sowie die Bewegungen allmählich zur Norm zurückkehren. Anders, wenn man grössere Mengen (etwa 6—8 mgr. bei einem Thier von 40 gr.) anwendet und diese, mit Natronlauge gelöst, unter Schonung der Musculatur in einen Rückenlymphsack injicirt. Ganz ohne locale Wirkungen auf die Extremitäten der Injectionsseite geht es zwar auch dann nicht ab; aber unabhängig von diesen entwickelt sich bald ein Bild allgemeiner, tödtlicher Vergiftung.

5—15 Minuten nach der Einspritzung fängt das bis dahin muntere Thier an krötenartig zu kriechen; alle Extremitäten, auch die der gesunden Seite, scheinen nur mit Mühe, gleichsam unter Ueberwindung eines zähen Widerstandes bewegt zu werden. Allmählich werden die spontanen Bewegungen seltener und hören schliesslich ganz auf. Das Thier lässt sich in diesem Stadium, 30—40 Minuten nach der Injection, willenlos umherschieben und in jede beliebige Stellung, z. B. in

Rückenlage, in Seitenlage bringen, ohne mehr als eine schwache Anstrengung zur Wiedergewinnung seiner Normalstellung zu machen. Wenn man das Hinterbein vorsichtig streckt oder die Vorderpfote unter den Rumpf schiebt, so lässt der Frosch sie lange Zeit liegen, ehe er sich anschickt, sie langsam wieder in ihre gewöhnliche Lage zu bringen. Zwar genügt anfangs ein Stich, ein leichter Druck auf das Fussgelenk, um ein paar energische Bewegungen hervorzurufen. Aber sehr bald, $^3/_4$—1 Stunde nach der Einführung des Giftes, beginnt die Reflexerregbarkeit rapide zu sinken. Fast immer zeigt sich, abgesehen vom Cornealreflex, der sehr lange erhalten bleibt, die Abnahme früher am Vorderkörper als an den Hinterbeinen. Zuletzt sinkt das Thier vornüber, die Lider schliessen sich, jede Lebensäusserung hört auf. Nichtsdestoweniger findet man das freigelegte Herz noch kräftig, 40—50 mal in der Minute, pulsirend.

Ein vollständiges Erstarren der gesammten Extremitäten während des Lebens habe ich bei der Temporaria hie und da, bei der Esculenta nie gesehen. Vielmehr beschränkt sich die Starre auf die Vorderbeine, die man in den späteren Stadien der Vergiftung zuweilen holzhart, häufiger in einem Zustand wachsartiger Consistenz findet. Oft liegen sie, wohl in Folge passiver Verschiebungen, die willkürlich nicht wieder ausgeglichen werden konnten, über der Brust gekreuzt oder längs des Rumpfes ausgestreckt und verharren in dieser Stellung auch, während der Frosch Sprünge ausführt. Die Hinterextremitäten bleiben trotz der unverkennbaren Schwerfälligkeit ihrer Bewegungen weich und biegsam. Verläuft die Vergiftung sehr rapide, so kann während des Lebens jede Spur von Starre fehlen; um so rascher und intensiver pflegt sich aber dann die Todtenstarre einzustellen. Auch bei tagelang protrahirtem Verlauf, den man nach mittleren Dosen öfter beobachtet, macht sich die Wirkung des Paraxanthins weniger durch eine tastbare Muskelstarre, als durch die Trägheit der Bewegungen und Reflexe bemerkbar.

Das Sinken der letzteren stellt sich ohne vorherige gröbere Steigerung der Erregbarkeit ein. Nur ein einziges

Mal habe ich (bei der Esculenta) Tetanus als Folge der Paraxanthinvergiftung gesehen.

Ein auffälliges Symptom, dessen ich bisher nicht Erwähnung gethan habe, ist die frühzeitig auftretende Dyspnöe. Fast unmittelbar nach der Injection nimmt die Zahl der Athemzüge beträchtlich zu und steigert sich auf das Doppelte, ja Dreifache der Anfangsziffer. Nachdem sie einige Zeit, etwa bis zum Eintritt ausgesprochener Muskelträgheit, auf dieser Höhe verblieben ist, sinkt sie ziemlich plötzlich bis weit unter die Norm herab, so dass nicht selten innerhalb einer bis drei Minuten gar kein Athemzug erfolgt, während nur ab und zu schnappende Bewegungen mit dem Unterkiefer ausgeführt werden. In allen Fällen vermisst man die Athmung lange vor Eintritt des Todes. Häufig, aber durchaus nicht immer, findet man bei der Obduction die Lungen enorm aufgebläht, eine Erscheinung, die übrigens schon von A. Mitscherlich[1]) vor drei Jahrzehnten bei der Theobrominvergiftung beobachtet worden ist. Man kann sie nicht selten schon bei Lebzeiten an der bedeutenden Zunahme des Leibesumfanges erkennen.

Bei der inneren Darreichung erweist sich das Paraxanthin, als trockenes Krystallpulver gegeben, in Folge seiner Schwerlöslichkeit wenig wirksam. Dosen, deren vierter Theil bei subcutaner Anwendung schon den Tod herbeiführt, rufen höchstens vorübergehende Trägheit hervor, von der sich das Thier bis zum folgenden Tage völlig erholt. Doch giebt es, wie die nachfolgende Beobachtung lehrt, auch Ausnahmen von der Regel.

Eine grosse Esculenta von 70 gr. hatte 40 mgr. reines Paraxanthin erhalten und die danach eingetretene Muskelträgheit im Lauf von 6 Stunden völlig überwunden; die einzige noch sichtbare Spur der Vergiftung bestand in einer mässigen Auftreibung des Leibes. 18 Stunden später aus dem Behälter genommen machte das Thier anfangs kräftige Abwehrversuche. Schon nach 5 Minuten fing es jedoch an

---

[1]) Der Cacao und die Chocolade. Berlin 1859.

matt zu werden und mit sichtlicher Anstrengung herumzukriechen. (Die Lungenblähung hatte seit dem vorhergehenden Tage noch beträchtlich zugenommen.) 15 Minuten nach Wiederaufnahme des Versuches waren die Vorderbeine ausgesprochen krummstarr, die Hinterbeine bei mässiger Steifigkeit völlig gelähmt; wenige Minuten später erlosch, erst am Vorderkörper, dann an den Hinterbeinen, die Reflexerregbarkeit, und nach weiteren 20 Minuten war kein Lebenszeichen mehr zu bemerken. Die sofort ausgeführte Section ergab: Enorme Aufblähung der Lungen. Herz 50 mal in der Minute kräftig pulsirend. Vorderbeine holzhart, Schenkel wenig härter als normal; Musculatur der letzteren nicht trübe. Im oberen Theil des sonst leeren Darms und im Rectum einige spärliche in Schleim eingebettete Paraxanthinkrystalle. Aus der zerhackten Musculatur der Beine konnte kein Paraxanthin wiedergewonnen werden.

Rascher und energischer scheint das innerlich gegebene Paraxanthin zu wirken, wenn man es mit Natronlauge in Lösung bringt; doch habe ich derartige Versuche bisher zu selten angestellt, um ein bestimmtes Urtheil abgeben zu können. Mittlerweile mag eine hierher gehörige Beobachtung, wiewohl sie nicht ganz eindeutig ist, Erwähnung finden.

Eine 54 gr. schwere Esculenta erhielt 20 mgr. reines Paraxanthin. Die bekannten Wirkungen gingen so rasch vorüber, dass das Thier sich schon nach 40 Minuten wieder in normaler Weise bewegte und während des folgenden Tages sogar ungewöhnlich lebhaft umhersprang. 23 Stunden nach der ersten Fütterung wurden wiederum 20 mgr. Paraxanthin, diesmal mit Natronlauge gelöst, verabreicht, und sofort traten frappante Veränderungen ein. Bereits nach 10 Minuten war der Frosch völlig apathisch und bewegungslos, gleich darauf erloschen die Reflexe und mit ihnen alle übrigen Zeichen des Lebens. Das Herz pulsirte noch lebhaft; die Extremitäten, die während dieses raschen Krankheitsverlaufes ganz weich geblieben waren, verfielen äusserst schnell der Todtenstarre (vgl. oben S. 190). Man kann in diesem Falle eine cumulative Wirkung des Giftes nicht mit Sicherheit ausschliessen;

indessen schien mir die Acuität der Vergiftung auch abgesehen von der Deutung, die man ihr unterlegen will, beachtenswerth.

Die tödtliche Dosis des Paraxanthins beträgt für Esculenten von normalem Kräftezustande bei subcutaner Anwendung 0,15—0,2 ‰ des Körpergewichts. Für die Vergiftung per os lässt sich vor der Hand eine Mittelzahl nicht aufstellen.

Jedenfalls ist die letale Gabe des Paraxanthins etwas niedriger als die des Theobromins und Xanthins. 12 mgr. Theobromin subcutan applicirt führten nach Filehne[1]) bei einer 35 gr. schweren Esculenta erst nach 18 Stunden den Tod herbei; die ersten 7 mgr. hatten nur verhältnissmässig unbedeutende Erscheinungen zur Folge gehabt. Vom Xanthin «genügen 15 mgr. (subcutan) bei Esculenten von 25—30 gr. zur Herbeiführung des Todes»[2]). Von den einzelnen Symptomen ist es besonders das Verhalten der Musculatur, welches die Paraxanthinwirkung von der der beiden anderen Körper unterscheidet. Theobromin ruft bei Esculenten «eine ziemlich schnell sich entwickelnde Starre der gesammten Körpermusculatur unter allmählicher Streckung des ganzen Thieres», Xanthin «eine extreme Starre und Verkürzung der gesammten vergifteten Körpermusculatur»[3]) hervor. So starke und allgemeine Wirkungen auf die Musculatur übt das Paraxanthin selbst in grosser Dosis nicht aus. Deswegen gelingt es bei diesem Körper auch nicht so leicht wie bei den anderen, den peripheren Charakter der Muskelerstarrung nachzuweisen. Bei Theobromin- oder Xanthinvergiftung bleibt nach Unterbindung einer Iliaca die Starre in dem betreffenden Bein aus, und damit ist die Frage in befriedigender Weise gelöst. Beim Paraxanthin dagegen ist das Resultat meist zweifelhaft, weil eine wirkliche Starre der Hinterbeine nicht zu Stande kommt, am wenigsten nach innerer Application, die natürlich für diesen Fall allein zulässig ist. Doch kann

[1]) L. c., S. 77.
[2]) Ibid., S. 81.
[3]) Ibid., S. 77 u. 81.

ich wenigstens eine indirect beweisende Beobachtung mittheilen. Eine Esculenta, die nach Ligatur einer Iliaca innerlich Paraxanthin erhalten hatte, contrahirte bei leichten Nadelstichen in den Oberkörper das ligirte Bein mit normaler Raschheit und Energie, das andere dagegen langsam und sehr unvollkommen. Dies berechtigt wohl dazu, für die Muskelstarre auch beim Paraxanthin eine locale Ursache anzunehmen.

Trotzdem ist das Gesammtbild der Paraxanthinvergiftung dem der Theobromin- und Xanthinwirkung sehr ähnlich. Allen dreien gemeinsam sind die trägen, kriechenden Bewegungen, späterhin das Aufhören jeder spontanen Muskelthätigkeit, die vollständige Vernichtung der Reflexerregbarkeit ohne vorhergehende Steigerung, endlich das Intactbleiben der Herzaction bis zu den spätesten Stadien der Vergiftung. Auch die Aufblähung der Lungen ist kein neues Symptom, sondern, wie oben bemerkt, bereits bei Theobrominvergiftungen beobachtet worden.

Ueber die Wirkungen des Paraxanthins bei Warmblütern habe ich mehrere Versuche angestellt, von denen der folgende als Beispiel dienen möge:

Versuch vom 28. Februar 1888.

Kleine weisse Maus von 15 gr. Gewicht.

12 h. 58'. 10 mgr. Paraxanthin, mit Natronlauge gelöst, unter die Rückenhaut gespritzt.

1 h. 2'. Läuft unruhig umher.

1 h. 4'. Unruhe zunehmend. Setzt die Hinterbeine ungeschickt, tappend auf.

1 h. 6'. Reflexerregbarkeit bei leisen Geräuschen deutlich erhöht.

1 h. 10'. Läuft umher. Leichte Zuckungen an Rumpf und Extremitäten. Sehr erhöhte Reflexerregbarkeit.

1 h. 16'. Breitbeiniger, schwerfälliger Gang, Körper niedergeduckt. Zuckungen im rechten Hinterbein.

1 h. 22'. Zuckungen, die den ganzen Körper erschüttern.

1 h. 30'. Linkes Hinterbein starr ausgestreckt, Musculatur vibrirend. Die allgemeinen Zuckungen dauern fort.

1 h. 38'. Die Steigerung der Reflexerregbarkeit hat in den letzten 15 Minuten den höchsten Grad erreicht. Schon beim blossen Anhauchen wird der ganze Körper des Thieres in die Höhe geschnellt.

1 h. 50'. Derselbe Zustand.

2 h. 10'. Tod im Opisthotonus.

Paresen der Hinterbeine und bedeutende Steigerung der Reflexerregbarkeit bis zum Tetanus bilden die charakteristischen Züge in diesem wie in den übrigen Protocollen. Die Dosis des Giftes muss 2—4 mal so hoch gewählt werden wie beim Frosch.

Ueber die antiseptische Wirkung der Gallensäuren.

Von

Dr. Ph. Limbourg.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts in Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 28. Juli 1888.)

Die Frage, ob die Galle eine Wirkung auf die Fäulniss im Darmkanal ausübt, ist schon von den verschiedensten Autoren einer Prüfung unterzogen worden. Es ist bekannt, dass die Unterbindung des Ductus choledochus neben Störungen der Fettresorption eine Vermehrung der Fäulniss im Darm bewirkt. Diese abnorme Darmfäulniss tritt jedoch nur dann ein, wenn die Nahrung gewisse Anforderungen an die Thätigkeit des Darmkanals stellt. Enthält die Nahrung nur Eiweiss und Kohlehydrate, so macht sich nach Abschluss der Galle vom Darm keine Störung geltend. Besteht hingegen die Nahrung zum grossen Theil aus Fett, so treten Symptome einer Erkrankung der Darmschleimhaut ein, die unter Behinderung der Fettresorption und abnormer Fäulniss des Darminhaltes verläuft und zu Inanitionserscheinungen, ja zum Tode des Thieres führen kann. Bidder und Schmidt[1]) sind zu der Ansicht gekommen, dass diese Erscheinungen bedingt sind durch den Fortfall einer in normalen Verhältnissen vorhandenen antiseptischen Wirkung der Galle.

Ob der Galle oder den Gallensäuren wirklich antiseptische Eigenschaften zukommen, ist bisher noch nicht genügend

1) Bidder und Schmidt, Die Verdauungssäfte und der Stoffwechsel. Mitau und Leipzig 1852.

untersucht worden. Maly und Emich[1]), ebenso wie Lindberger[2]) haben aus mikroskopischen Untersuchungen und dem Auftreten von Fäulnissgeruch Schlüsse über die Beeinflussung der Fäulniss durch Galle und Gallensäuren zu ziehen gesucht.

Bei der Prüfung einer derartigen fäulnisswidrigen Wirkung kommt es nicht darauf an, zu entscheiden, ob die Galle in irgend einer Concentration die Fäulniss völlig aufhebt oder nicht, sondern man hat festzustellen, ob dieselbe den chemischen Process der Fäulniss in irgend einer Weise modificirt, ob sie etwa bewirkt, dass die Spaltung der Nahrungsstoffe in einer besonderen Richtung verläuft, und ob sie dieselbe verlangsamt oder theilweise verhindert. Für die Beurtheilung dieser Fragen können nur quantitative Bestimmungen massgebend sein.

Ich ging daher sehr gern auf den Vorschlag des Herrn Professor Kossel ein, die fäulnisshemmende Wirkung der Galle von Neuem nach einer bereits von Hirschler[3]) veröffentlichten Methode zu untersuchen, welche es ermöglicht, gerade die ersten Zersetzungsproducte der Eiweissstoffe, die Amidosäuren, mit hinreichender Genauigkeit festzustellen. Diese Methode beruht darauf, dass durch die Phosphorwolframsäure eine Trennung geschieht zwischen zwei Gruppen von Fäulnissproducten, deren ersterer die Propeptone und Peptone, deren letzterer die Amidosäuren angehören. Wir wollen im Folgenden die durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Substanzen kurzweg als «Gruppe 2» bezeichnen; zu denselben gehören ausser den Amidosäuren vielleicht noch andere nicht bekannte Producte.

Um in einwandfreier Weise die gesetzte Aufgabe zu lösen, war es nothwendig, dem Darmkanal ähnliche Verhältnisse herzustellen. Ich verwendete mit wässrigen Pancreasauszügen vermischte Peptonlösungen und brachte Darmbac-

---

[1]) Sitzungsber. d. kais. Akademie d. Wissensch., Bd. 87. Wien 1883.
[2]) Jahresber. d. Thierchemie, Bd. XIV, S. 334.
[3]) Diese Zeitschrift, Bd. XI, 1887, S. 25.

terien hinzu, indem ich mit Hundefäces inficirte. Die Temperatur war der des Blutes annähernd gleich.

Da von den Bestandtheilen der Galle wohl nur die Gallensäuren zu berücksichtigen waren, so studirte ich, um möglichst einfache Verhältnisse zu haben und eine genaue Dosirung zu erlangen, die Wirkung der Cholalsäure. Ich stellte diese aus Rindergalle dar. Sie war gut krystallisirt und ziemlich rein. Da bereits ein geringer Säuregrad die Fäulniss sehr einschränkt (Lindberger), so suchte ich neutrale Reaction herzustellen. Abschluss der Luft wurde durch eine Oelschichterzielt.

Für die Anstellung der Versuche wählte ich folgende Verhältnisse. 4 gr. Witte'sches Pepton wurden mit Wasser erwärmt, vom Ungelösten abfiltrirt, das Filtrat mit Pancreasauszug versetzt und cholalsaures Natron hinzugefügt. Die Menge des zugesetzen Pancreasinfuses war überall die gleiche, der Zusatz des cholalsauren Salzes unterblieb in den Controlportionen. Sämmtliche einer Versuchsreihe angehörigen Portionen wurden in kleinen Kölbchen, die in einem grossen auf Brutwärme erhitzten Wasserbad standen, gleichmässig erwärmt.

Zur Analyse verarbeitete ich von dem Versuchsquantum 10 cbcm. zur Feststellung des Gesammtstickstoffs. In 40 cbcm. wurde der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbare Stickstoff ermittelt. Der Rest von 50 cbcm. diente der Ammoniakbestimmung.

Die Stickstoffbestimmung geschah nach der Kjeldahlschen Methode in der von Hirschler beschriebenen Weise. Vor Beginn des Versuchs wurde die Lösung analysirt. Nach 24 resp. 48 Stunden wurde die Fäulniss in den einzelnen Portionen durch Zusatz von verdünnter Schwefelsäure unterbrochen. Bei der Stickstoffbestimmung erwies es sich als zweckmässig, durch die siedende Schwefelsäure einen Luftstrom hindurchzuleiten, um das Stossen zu verhindern. In denjenigen Fällen, in welchen die Fällung mit Phosphorwolframsäure der Stickstoffbestimmung vorausging, wurde die zu untersuchende Lösung in folgender Weise verarbeitet: 40 cbcm. der ursprünglichen Flüssigkeit versetzte ich mit einer

nicht genau bestimmten Menge einer verdünnten Schwefelsäure, die 10 cbcm. conc. Schwefelsäure enthielt, fügte 40 cbcm. einer Lösung von phosphorwolframsaurem Natron hinzu, verdünnte mit Wasser auf 250 cbcm. und filtrirte. 50 cbcm. des Filtrats wurden nach Kjeldahl's Verfahren analysirt.

Trotzdem bereits Hirschler dargethan hat, dass dies Verfahren zur Bestimmung der Amidosäuren neben Propepton und Pepton anwendbar ist, überzeugte ich mich noch durch einen eigenen Versuch von der Genauigkeit der Methode. Von einer 2procentigen Asparaginlösung werden 10 cbcm. nach der Kjeldahl'schen Methode untersucht. In der Vorlage waren 53,15 cbcm. $^1/_{20}$-Normalschwefelsäure gesättigt, berechnet waren 53,33 cbcm. Von derselben Asparaginlösung werden 20 cbcm. mit 20 cbcm. einer 2procentigen Lösung von Propepton (dargestellt aus Witte's Pepton) versetzt und nach dem oben angegebenen Verfahren mit Phosphorwolframsäure behandelt. Bei der Titration wurden von der vorgelegten N.—H_2SO_4 21,01 cbcm. (statt 21,3) neutralisirt gefunden.

Versuch 1.

In der folgenden Zusammenstellung ist das Resultat auf die ganze 100 cbcm. betragende Flüssigkeitsmenge berechnet.

Tabelle 1.

Zeit.	Gesammt-Stickstoff.		Stickstoff der Gruppe 2.		Stickstoff d. Ammoniaks.	
	Bei Gegenwart von 1 % cholals. Na.	Ohne Zusatz.	Bei Gegenwart von 1 % cholals. Na.	Ohne Zusatz.	Bei Gegenwart von 1 % cholals. Na.	Ohne Zusatz.
Beginn des Versuchs	0,6171	0,6187	0,1275	0,1121	—	—
Nach 24 Stund.	0,5695	0,5801	0,2771	0,3694	0,0347	0,0728
Nach 48 Stund.	0,5686	0,6090	0,3300	0,4188	0,0636	0,2016

Die erste Colonne giebt eine Vorstellung von der Grösse der Versuchsfehler, welche zum Theil durch den Verlust an Stickstoff in Form von Ammoniak, zum Theil durch die un-

regelmässige Verdunstung von Wasser hervorgerufen waren. Da es sich in der zweiten Colonne um Bruchtheile der Stickstoffmengen der ersten handelt, so sind hier die Fehler entsprechend geringer.

Setzen wir das Mittel aus den 6 Gesammt-Stickstoffbestimmungen 0,594 gleich 100, so ergeben sich für die Stickstoff-Werthe der drei Gruppen folgende Zahlen:

Tabelle 2.

Zeit.	Stickstoff in Gruppe 1.		Stickstoff in Gruppe 2.		Stickstoff in Ammoniak.	
	Bei Gegenwart von 1 % cholals. Na	Ohne Zusatz.	Bei Gegenwart von 1 % cholals. Na.	Ohne Zusatz.	Bei Gegenwart von 1 % cholals. Na.	Ohne Zusatz.
Beginn des Versuchs	79,8*)		20,2*)		0	
Nach 24 Stund.	47,8	25,5	46,7	62,2	5,8	12,3
Nach 48 Stund.	33,7	0	55,6	70,5	10,7	33,9

*) Mittel aus den zwei gefundenen Zahlen.

Versuch 2.

Tabelle 3.

Zeit.	Gesammt-Stickstoff.		Stickstoff der Gruppe 2.			Stickstoff des Ammoniaks.		
	Bei Gegenwart von 1/4 % cholals. Na.	Ohne Zusatz.	Bei Gegenwart von 1/2 % cholals. Na.	Bei Gegenwart von 1/4 % cholals. Na.	Ohne Zusatz	Bei Gegenwart von 1/2 % cholals. Na	Bei Gegenwart von 1/4 % cholals. Na.	Ohne Zusatz
Beginn des Versuchs	0,6317	0,6290	—	0,2613	0,2514	—	0	0
Nach 24 Stund.	—	—	0,3098	0,3472	0,4162	0,0010	0,0016	0,0070

In diesem Versuch wurde der Gesammt-Stickstoff nur in 2 Portionen bestimmt. Nehmen wir aus beiden Angaben das Mittel und berechnen die anderen Zahlen als Procente wie im ersten Versuch:

Tabelle 4.

Zeit.	Stickstoff in Gruppe 1.			Stickstoff in Gruppe 2.			Stickstoff in Ammoniak.		
	Bei Gegenwart von		Ohne Zusatz.	Bei Gegenwart von		Ohne Zusatz.	Bei Gegenwart von		Ohne Zusatz.
	1/2 % cholals. Na.	1/4 % cholals. Na.		1/2 % cholals. Na.	1/4 % cholals. Na.		1/2 % cholals. Na.	1/4 % cholals. Na.	
Beginn des Versuchs	59,3			40,7			0		
Nach 24 Std.	50,7	44,6	32,9	49,1	55,1	66,0	0,16	0,26	1,10

Wenn diese Zahlen wegen der oben erörterten Versuchsfehler auch keinen Anspruch auf grosse Genauigkeit machen können, so sind sie doch für den vorliegenden Fall hinreichend beweisend. Es lässt sich eine Einschränkung der Fäulniss durch cholalsaures Natron in den angewandten Concentrationen von 1, 1/2 und 1/4 Procent nicht verkennen. Zunächst ist die Bildung der ersten Zersetzungsproducte, welche aus dem durch Phosphorwolframsäure nicht gefällten Stickstoff erkannt wird, verlangsamt. In noch höherem Masse wurde die weitere Spaltung der Gruppe 2 unter Bildung von Ammoniak verzögert, wie aus den Zahlen ersichtlich ist.

Nach den vorhandenen Angaben[1]) über die Ausscheidungsverhältnisse der Gallensäuren muss man annehmen, dass im Darmkanal ähnliche Concentrationen vorkommen, wie ich sie verwendete. Meine Versuche gestatten daher wohl eine Anwendung auf die Vorgänge im lebenden Organismus. Ich glaube folgern zu müssen, dass die Gallensäuren eine antiseptische Wirkung im Darme entfalten und hierdurch den Zerfall der stickstoffhaltigen Nahrungsstoffe zu einfachen für die Ernährung wenig vortheilhaften oder direct schädlichen Verbindungen verlangsamen.

---

[1]) s. Hoppe-Seyler, Physiologische Chemie. Berlin 1881. S. 298—310.

Beiträge über den Zucker- und Allantoin-Gehalt im Harn und in der Ascitesflüssigkeit bei Lebercirrhose.

Von

Regulus Moscatelli in Rom.

(Aus dem physiologisch-chemischen Laboratorium in Rom.)

(Der Redaction zugegangen am 14. August 1888.)

Bei einer kleinen Zahl von Lebercirrhosekranken ist Zucker im Urin mit Sicherheit nachgewiesen worden. Zuerst berichtet Colrat[1]) über zwei Fälle von Lebercirrhose, in denen nach der Einführung von Amylaceen, von zuckerhaltigem Getränk, von Syrup, Rosinen etc. Glycosurie auftrat. Ferner Lépine[2]), welcher bei anderen Leberkranken diese glycosurie alimentaire künstlich hervorzubringen vergeblich versucht hat, bei einem Cirrhotiker dagegen dieselbe 6 Tage lang andauern sah, und Quincke[3]) fand ebenfalls Glycosurie in Verbindung mit Cirrhose schon bei gewöhnlicher Ernährung. Eine constante pathognostische Erscheinung im Bilde der Lebercirrhose kann übrigens die alimentäre Glycosurie nicht genannt werden, da sie nur in vereinzelten Fällen erzeugt worden ist[4]), und ich habe auch einen Fall von exquisiter Lebercirrhose benutzt, um diese Angabe zu prüfen, aber der spärliche Harn gab keine Zuckerreaction, auch nicht nach reichlichem Genuss von Amylaceen, Zucker u. a.

---

1) Colrat, De la glycosurie dans les cas d'obstruction partielle ou totale de la veine porte. Lyon. Méd., 1875, No. 15.

2) Gaz. méd. de Paris, 1876, No. 11, S. 123.

3) Berl. klin. Wochenschr., 1876, No. 38.

4) Quincke, l. c., S. 548. Hardy (Gaz. méd., 4. Jan. 1879).

Ich habe die ascitische Flüssigkeit auf Zucker untersucht und habe das Vorhandesein von Zucker durch die Trommer-, Böttcher-, Silbernitrat-, Indigocarmin- und Gährungsprobe nachgewiesen. Die Böttcher'sche Probe wurde mit der Brücke'schen Modification[1]) angestellt, und meine Gährungsversuche gestatteten mir, die beiden Spaltungsproducte des Zuckers, Kohlensäure und Alkohol, nachzuweisen.

Eine quantitative Bestimmung des Zuckers wurde mit Fehling'scher Lösung ausgeführt und hierbei fand ich 0,15 % Zucker.

Ich stellte mir weiter die Aufgabe, Allantoin in diesem Transsudat zu suchen. Ich verarbeitete 6 Liter Flüssigkeit; dieselbe wurde erst mit Essigsäure leicht angesäuert und gekocht[2]), um die Ausfällung der Eiweissstoffe zu bewirken, was mir aber nicht vollständig gelang. Ich liess nun die Flüssigkeit kühl werden und fügte Alkohol in grossem Ueberschusse zu. Ich liess die Mischung an einem kühlen Orte einige Zeit stehen und filtrirte; in dieser Weise gelang es mir, die Eiweissstoffe vollständig zu entfernen. Das Filtrat wurde mit einer wässerigen Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd gefällt, der Niederschlag auf einem Faltenfilter gesammelt und mit kaltem Wasser gewaschen. Danach wurde der gewaschene Niederschlag in Wasser aufgerührt, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und filtrirt. Dem klaren Filtrat wurde etwas Ammoniak zugesetzt und concentrirte ich es sodann im Wasserbade auf ein sehr kleines Volumen. Ich filtrirte wieder und die klare Flüssigkeit wurde mit ammoniakalischer Lösung von salpetersaurem Silberoxyd gefällt und 24 h. stehen gelassen. Der Niederschlag wurde auf einem Filter gesammelt und mit Wasser gut ausgewaschen. Dann wurde der Niederschlag im Wasser zertheilt und durch Schwefelwasserstoff das Silber abgeschieden und das Filtrat auf dem Wasser-

---

[1]) Wien. acad. Sitzungsber., 1875, Bd. 62, 2. Abth., Juniheft.

[2]) Hoppe-Seyler, Handbuch der physiol. u. path. chem. Analysen, V. Aufl., S. 162.

bade verdampft. Ich erhielt Krystalle, welche sich als vollkommen identisch mit den früher[1]) gemessenen Präparaten, unzweifelhaft Allantoin, erwiesen.

Diese Krystalle lösten sich sehr schwer in kaltem, leichter in kochendem Wasser und waren unlöslich in kaltem, absoluten Alkohol oder Aether. Ich habe dieselben mit Kalilauge in einem Probirglas erhitzt, wobei sich Ammoniak entwickelte. Nach den Angaben von Gmelin[2]) habe ich die Krystalle mit Kupferoxydhydrat und Wasser gekocht und erhielt eine blaue Lösung, aus welcher sich grüne Krystalle (eine Verbindung von 6 Mol. Allantoin und 1 Mol. CuO) ausschieden, was Schulze und Bosshard[3]) nicht erhalten konnten.

Also nach der chemischen und krystallographischen Untersuchung dieses Stoffes muss man annehmen, dass die ascitische Flüssigkeit bei Lebercirrhose Allantoin enthält.

---

[1]) Zeitschrift für Krystallographie, Bd. VIII, S. 505.
[2]) Gmelin's Handbuch der Chemie, Suppl., S. 936,
[3]) Zeitschrift für physiologische Chemie, 1885, S. 424.

Ueber die Säuren der Schweinegalle. II.

Von

Prof. Dr. Severin Jolin.

(Der Redaction zugegangen am 22. Juni 1888.)

Was die α-Hyoglykocholsäure mit ihren Salzen anbetrifft, so haben schon Gundelach und Strecker von derselben eine ausführliche Beschreibung gegeben und versucht, durch eine Serie (ziemlich gut übereinstimmender) Analysen ihre Formel zu bestimmen, daher ich hier, auf ihre Abhandlung verweisend, nur einige Beobachtungen erwähnen will, die ich zu machen Gelegenheit gehabt habe und die sich von den ihrigen entweder etwas unterscheiden oder auch sie in gewissem Grade vervollständigen. Dass die Verbindung, welche die genannten Forscher studirt haben, und diejenige, welche von mir hier α-Säure benannt sind, identisch sind, geht sowohl aus der Darstellungsweise, wie auch aus den Eigenschaften und der Zusammensetzung hervor, obschon es ziemlich wahrscheinlich ist, dass die Gundelach-Strecker-schen Präparate auch die Verbindungen der β-Säure enthalten haben, was zufolge der Aehnlichkeit in der Zusammensetzung der beiden Säuren die analytischen Ergebnisse nicht merkbar beeinflusst.

Die Darstellung des α-Natriumsalzes ist bereits in dem Vorhergehenden beschrieben worden. Da dieses Salz bei der Darstellung der Säure und ihrer anderen Salze in reinem Zustande in der Regel zum Ausgangspunkte dient, so ist es merkwürdig, dass Gundelach und Strecker die eigenthümlichen Formen, mit welchen es bei Ausfällung durch gesättigte Salzlösungen auftritt, nicht näher beschrieben, auch

seine relative Schwerlöslichkeit in kaltem Wasser nicht erwähnt haben, welche zur Folge hat, dass eine warme, nicht zu verdünnte Lösung bei Abkühlung zu einem weissen Brei erstarrt, der unter dem Mikroskop ähnliche Formen zeigt, wie der mit Salzlösungen erhaltene Niederschlag. Ebensowenig habe ich bei anderen Verfassern diese Formen beschrieben gefunden; nur Nasse[1]) spricht bei seinen Versuchen über die Einwirkung der Schweinegalle auf Stärke von einem «Niederschlag aus der Galle, der fast so aussah, als bestehe er aus feinen Nadeln, die aber weiter nichts als Falten in feinen Häutchen waren». In solchen feinen gefalteten Häutchen tritt das α-Natriumsalz in der Regel auf, wenn es schnell aus seiner Lösung ausgeschieden wird, aber auch dann findet man oft Formen, welche deutlich einen Uebergang zu wirklicher Krystallbildung zeigen. Lässt man dahingegen eine Wasserlösung des Salzes sehr langsam verdampfen, so scheidet das Salz in unzweifelhaften Krystallen, in äusserst dünnen, platten, feinen Nadeln aus, die oft mit einander zusammenhängen und nicht selten so lang sind, dass sie sich sehr gut mit unbewaffnetem Auge wahrnehmen lassen. Ausserdem treten oft so zu sagen embryonale Formen auf, die alle Uebergänge zwischen Häutchen und Krystallnadeln zeigen. Die letztern, welche übrigens dasselbe Aussehen wie die Krystalle des entsprechenden β-Salzes haben, zeigen ebenso wie diese oft Anschwellungen und Unebenheiten, die einen weniger vollkommenen Krystallzustand andeuten.

7,321 gr. von einer bei ungefähr 24° gesättigten Lösung des Salzes in Wasser gaben bei Eindampfung einen Rückstand, der nach Trocknen bei 140° 0,7517 gr. wog. Bei der genannten Temperatur fordert 1 Theil des Salzes zur Lösung also nahezu 9 Theile reines Wasser; in salzhaltigem Wasser ist es viel schwerer löslich[2]). Die wässrige Lösung hat einen

---

1) Archiv d. wissenschaftl. Heilkunde, herausgegeben von Vogel, Nasse und Beneke, Bd. IV, S. 449.

2) Bei einem andern Versuch fiel jedoch Salz aus einer Lösung von 1 gr. Salz in 16 gr. Wasser, die in Wärme bereitet worden war, aus, als dieselbe auf 20° abgekühlt wurde.

intensiv bitteren Geschmack, ohne irgend einen süssen Vorgeschmack.

Die Angabe der Lehrbücher, dass die Lösungen hyoglykocholsaurer Salze optisch unwirksam seien, ist in sofern richtig, als eine gesättigte Wasser-Lösung von α-Natriumsalz bei wiederholter Prüfung in einer Röhre von 10 cm. nicht die geringste Spur einer Drehung zeigte. Dahingegegen zeigte dasselbe Salz in einer Alkohollösung[1]) von ungefähr derselben Stärke eine schwache, aber unzweideutige Einwirkung auf das polarisirte Licht. Dasselbe war nämlich rechtsdrehend und hatte die sp. Rotation $(\alpha)_D = 5{,}7^\circ$. Die Alkohollösung des Kaliumsalzes wirkte etwas stärker drehend $((\alpha)_D = +8{,}6^\circ)$; in beiden Fällen war die Temperatur ungefähr 24°.

Die Wasserlösung des α-Natriumsalzes reagirt schwach, aber deutlich alkalisch. Bei Zusatz selbst von nur sehr kleinen Mengen verdünnter Säure (gleichviel ob Mineralsäure oder Essigsäure) trübt sich die Lösung und wird opalescent, oder auch giebt sie, je nach der Menge der zugesetzten Säure, einen flockigen Niederschlag. In einem Ueberschuss starker Mineralsäuren löst sich die ausgefällte Gallensäure allmählich, in einem solchen von concentrirter Essigsäure sehr leicht. Auch normaler, saurer Urin fällt das α-Salz aus, und der Niederschlag verschwindet selbst bei einem grossen Ueberschuss von Urin nicht vollständig. Ganz ebenso verhält das α-Salz sich auch gegen eine Lösung von Dinatriumphosphat, welcher so viel freie Phosphorsäure zugesetzt ist, dass die Reaction sich deutlich sauer erweist.

Von Alkalien und Alkalicarbonat wird die Lösung gefällt. Der zuerst gelatinöse, dann grobflockige Niederschlag zeigt unter dem Mikroskop die gewöhnlichen häutchenartigen Formen. Bei Erhitzung in der Flüssigkeit löst sich der Niederschlag theilweise, wird im Uebrigen aber schwerer und mehr compact. Bei hinreichender Verdünnung mit Wasser löster

---

[1]) Zur Verhinderung der Ausscheidung des Salzes mit ein paar Tropfen Wasser versetzt.

sich vollständig. Kaustischer Ammoniak in grossem Ueberschuss fällt die Lösung des α-Salzes nicht, bei einem Zusatz von Säure (mit Beibehaltung der alkalischen Reaction) aber entsteht zufolge der Einwirkung des entstandenen Ammoniaksalzes ein Niederschlag.

Chlorbarium, Chlorcalcium und Magnesiumsulfat erzeugen weisse, voluminöse Niederschläge, die bald compacter werden und sich dann leichter filtriren lassen. Dieselben lösen sich in einem Ueberschuss von gallensaurem Salz nicht merkbar mehr als in blossem Wasser, in welchem sie jedoch bei gewöhnlicher Temperatur ziemlich schwer löslich sind. Wird eine sehr verdünnte Lösung von gallensaurem Salz angewendet, so kann es geschehen, dass bei Zusatz von z. B. einer kleinen Menge Chlorbarium zufolge dieser Löslichkeit kein Niederschlag entsteht, was aber der Fall ist, wenn Chlorbariumlösung in einem hinreichenden Ueberschuss zugesetzt wird, denn das gallensaure Bariumsalz löst sich schwerer in salzhaltigem als in reinem Wasser. Bei Kochung löst sich der Niederschlag leichter; wird aber keine grosse Menge Wasser angewendet, so löst sich nur ein kleinerer Theil; der Rest sinkt zusammen und bildet ein ziemlich schweres, weisses Pulver oder compacte Massen, ohne zu schmelzen.

Auf ungefähr dieselbe Weise verhalten sich die Niederschläge, welche die Lösungen der Salze schwerer Metalle (Mangan-, Ferro-, Zink- und Kupfersulfat, Chromalaun, Kobalt- und Nickelnitrat, Bleiacetat, Zinnchlorur) in einer Lösung von α-Salz erzeugen. Quecksilberchlorid giebt gewöhnlich nur eine schwache Opalescenz, bei Aufkochung aber wird die Mischung milchig trübe oder auch entsteht, wenn die Lösungen concentrirt sind, ein Niederschlag in dicken, weissen Flocken. Eisenchlorid giebt einen gelatinösen, rostgelben, bei Kochung flockigen Niederschlag. Silbernitrat erzeugt einen weissen, gelatinösen, sehr voluminösen Niederschlag, welcher bei Kochung in der Flüssigkeit nicht dunkelt und nur wenig zusammensinkt, sondern voluminös verbleibt, obschon er etwas flockiger wird. Einige Zeit

der Einwirkung des Lichtes ausgesetzt, wird der Niederschlag nach und nach dunkler.

Die Eigenschaften des α-Natriumsalzes, in concentrirter absoluter Alkohollösung zu einer opodeldokähnlichen Masse zu erstarren, ist bereits in dem Vorhergehenden erwähnt worden.

Eine Lösung von Pepton (Handelswaare) gab mit einer Lösung von α-Natriumsalz eine emulsionsartige Trübung, welche bei Erwärmung nicht verschwand. Zusatz von gallensaurem Salz in Ueberschuss löste den Niederschlag auf, doch wurde die Flüssigkeit dabei nicht vollständig klar, sondern opalescirend.

Analysen von α-Natriumsalz von verschiedenen Bereitungen gaben folgende Resultate:

1.0388 gr. von einem Präparat, das aus einer Wasserlösung «umkrystallisirt», an der Luft getrocknet und dann während einer langen Zeit über Schwefelsäure zu constantem Gewicht eingetrocknet worden war, verloren bei Erhitzung bis auf 103—105° 0,0159 gr. (= 1,53%) an Gewicht. Das in seinem Aussehen unveränderte Salz wurde bis auf 185—190° erhitzt und verlor dabei noch 0,0034 gr. (= 0,33%) an Gewicht, fing aber gleichzeitig an zu schmelzen und sich gelblich zu färben. Nach Abkühlung löste es sich jedoch klar, obschon mit gelber Farbe, in Wasser, und die Lösung setzte sodann bei Abkühlung die gewöhnlichen Häutchen ab.

0,5558 gr. wurden bis auf 140—145° erhitzt. Das Salz sinterte sodann etwas, verblieb aber weiss. Der Gewichtsverlust war = 0,0093 gr.

0,2157 gr. gaben 0,0314 gr. $NaSO_4$ = 0,01017 gr. Na.

0,3920 gr. gaben 0,0570 gr. $NaSO_4$ = 0,01846 gr. Na.

0,5675 gr. neutralisirten bei der N-Bestimmung 13,0 cbcm. Säure, entsprechend 0,01579 gr. N.

0,4528 gr. neutralisirten bei N-Bestimmung 10,1 cbcm. Säure = 0,012275 gr. N.

0,6350 gr. gaben bei Verbrennung 1,5054 gr. CO_2 und 0,5093 gr. H_2O.

Diese Zahlen stimmen mit der Annahme überein, dass das Salz, über Schwefelsäure getrocknet, 1 Mol. Krystallwasser enthält, wovon die eine Hälfte bei ungefähr 100° verflüchtigt, während die andere nicht entfernt werden zu können scheint, ohne dass das Salz gleichzeitig anfängt sich zu zersetzen.

Werden die gefundenen Werthe in Procenten berechnet, so erhält man nämlich:

$C_{27}H_{42}NaNO_5 + H_2O$:			Berechnet:	Gefunden:	
C_{72}	=	324	64,66	64,65	—
H_{44}	=	44	8,78	8,91	—
Na	=	23	4,59	4,71	4,71
N	=	14	2,79	2,78	2,71
O_6	=	96	19,18	—	—
		501	100,00		
$(1/_2 H_2O$	=	9	1,53	1,53 (+ 0,33)	1,67

Diese Analysen werden von der folgenden vervollständigt, die mit einer bei höherer Temperatur getrockneten Substanz ausgeführt ist. Zum Vergleich habe ich auch die Mittelzahl von Gundelach's und Strecker's Analysen desselben Salzes, bei 100° getrocknet, angeführt.

0,4168 gr. (getrocknet bei circa 105°) gaben 0,0446 gr. Na_2CO_3 = 0,019355 gr. Na.

0,5669 gr. neutralisirten bei N-Bestimmung 12,3 cbcm. Säure = 0,015252 gr. N.

0,6606 gr. neutralisirten 14,3 cbcm. Säure = 0,017732 gr. N.

0,2626 gr. (getrocknet bei 140—145°) gaben bei Verbrennung 0,6345 gr. CO_2 und 0,2195 gr. H_2O.

In Procenten:

$C_{27}H_{42}NaNO_5 + 1/_2 H_2O$:			Berechnet:	Gefunden:		Gund. und Str. (im Mittel):
C_{27}	=	324	65,85	65,89	—	65,54
H_{43}	=	43	8,74	9,29	—	8,98
Na	=	23	4,67	4,64	—	4,59
N	=	14	2,84	2,69	2,68	3,01
$O_{5\,1/2}$	=	88	17,90			
		492	100,00			

Ausser diesem Salz sind auch noch einige andere Salze näher untersucht worden.

Das Kaliumsalz, gleichviel ob es durch directe Neutralisation der Säure mit Kaliumcarbonat oder durch Ausfällung mit Kaliumsulfat oder Kaliumhydrat dargestellt ist, gleicht in allem Wesentlichen dem Natriumsalz. Dasselbe tritt in ganz denselben «Häutchen»-Formen auf, welche dann bei langsamer Eindampfung der Wasserlösung in platte Nadeln, vollständig denjenigen des Natriumsalzes gleichend, übergehen. Wenn dahingegen das Kaliumsalz in kochendem absoluten Alkohol gelöst wird, so scheidet es bei Abkühlung der Lösung

nicht auf dieselbe Weise wie das Natriumsalz aus, sondern es setzt sich als ein feines Pulver ab, das sich selbst bei bedeutender Vergrösserung als vollkommen amorph erweist. Bei Zusatz eines Tropfens Wasser zur Alkohollösung löst der Niederschlag sich sofort auf. Auf das Filter genommen, verwandelt er sich durch die Aufnahme von Wasser bald zu einer firnissähnlichen Masse.

Die Analysen scheinen darzuthun, dass das Salz Wasser (1½ Mol.) noch nach Erhitzung bis auf 150—160° erhält:

0,3487 gr. (getrocknet bei ungefähr 120°) gaben 0,7797 gr. CO_2 und 0,2721 gr. H_2O.

0,5049 gr. (getrocknet bei ungefähr 130°) gaben 0,0869 gr. K_2SO_4.

0,2380 gr. (getrocknet bei 150—160°) gaben 0,5355 gr. CO_2 und 0,1909 gr. H_2O.

In Procenten:

$C_{27}H_{42}KNO_5 + 1^1/_2H_2O$:		Berechnet:	Gefunden:		Gund. und Str. (im Mittel):
C_{27} =	324	61,58	60,98	61,36	63,67
H_{45} =	45	8,55	8,67	8,91	8,68
K =	39,1	7,43	7,72	—	—
N =	14	2,66	—	—	—
$O_{6^1/_2}$ =	104	19,78			
	526,1	100,00			

Gundelach's und Strecker's Zahlen stimmen dahingegen mit der Formel $C_{27}H_{42}KNO_5 + {}^1/_2 H_5O$ überein, welche 63,76% C, 8,46% H und 7,69% K fordert.

Das Ammoniumsalz wird von Gundelach und Strecker als ein krystallinischer Niederschlag bezeichnet, welcher sich bei Zusatz von einer concentrirten Lösung eines Ammoniumsalzes zu einer Lösung von Natriumhyoglykocholat bildet. Ich habe trotz mehrfacher Versuche diesen Niederschlag niemals von einem andern Aussehen erhalten können als demjenigen, welches das Natrium- und das Kaliumsalz bei Aussalzung zeigen. Wahrscheinlich kann man das Ammoniumsalz in Krystallform auf dieselbe Weise wie die beiden ebenerwähnten Salze, d. h. bei sehr vorsichtiger Eindampfung erhalten, dass es aber eine solche Form bei directer Ausfällung hat, wage ich bestimmt zu bestreiten.

Das Bariumsalz. Gefällt mit Chlorbarium aus der Lösung des Natriumsalzes, bildet es sofort einen dicken, weissen, käsigen Niederschlag, welcher bald mehr körnig wird und sich leicht filtriren lässt. Das Salz ist nicht unlöslich in Wasser, so dass es sich bei freiwilliger Verdunstung des Filtrates oft in krystallinischer Form absetzt und dann zuweilen glänzende Nadeln bildet, so gross, dass sie deutlich mit dem blossen Auge zu sehen sind. In warmem verdünnten Spiritus löst es sich viel leichter als in absolutem Alkohol und scheidet bei Abkühlung der Lösung gewöhnlich als ein weisser, amorpher, pulverförmiger Niederschlag, zuweilen auch als eine schwach gelbe, syrupöse Masse aus, die getrocknet einen leicht pulverisirbaren Rückstand giebt. Analysen wurden theils mit einem Präparate vorgenommen, welches nach der Ausfällung lange über Schwefelsäure getrocknet und dann bis auf 100° erhitzt worden war (A), theils mit einem solchen, das sich aus einer Lösung des Salzes in verdünntem Spiritus bei freiwilliger Eindampfung derselben auskrystallisirt hatte und dann über Schwefelsäure getrocknet worden war (B).

A. 0,5671 gr. gaben nach Glühung und Behandlung des Rückstandes mit Ammoniumcarbonat 0,1053 gr. $BaCO_3$.

0,1383 gr. gaben 0,3124 gr. CO_2 und 0,1122 gr. H_2O.

In Procenten:

$C_{27}H_{42}baNO_5$:			Berechnet:	Gefunden:
C_{27}	=	324	61,31	61,60
H_{42}	=	42	7,95	9,01
ba	=	68,5	12,96	12,92
N	=	14	2,65	—
O_5	=	80	15,13	—
		528,5	100,00	

B. 0,2635 gr. gaben 0,5759 gr. CO_2 und 0,1996 gr. H_2O.

0,6130 gr. neutralisirten bei N-Bestimmung 12,1 cbcm. Säure = 0,01482 gr. N.

0,5934 gr. gaben 0,1229 gr. $BaSO_4$.

0,6876 gr. neutralisirten bei N-Bestimmung 13,9 cbcm. Säure = 0,017028 gr. N.

0,6854 gr. gaben 0,1198 gr. $BaSO_3$.

Zu den beiden letzten Bestimmungen wurde ein Material von einer anderen Bereitung als zu den vorhergehenden benutzt.

$C_{27}H_{42}baNO_5 + H_2O$:			In Procenten: Berechnet:	Gefunden:		Gund. und Str. (im Mittel):
C_{27}	=	324	59,29	59,61	—	59,71
H_{44}	=	44	8,05	8,41	—	8,07
ba	=	58,5	12,53	12,19	12,15	12,58
N	=	14	2,56	2,42	2,48	—
O_6	=	96	17,57	—	—	—
		546,5	100,00			

Gundelach und Strecker, welche ein bei 100° getrocknetes Präparat analysirten, nehmen für dasselbe eine der Formel $C_{27}H_{42}baNO_5 + \frac{1}{2}H_2O$, welche 60,28% C, 8,00% H, 12,74% Ba und 2,60% N fordert, entsprechende Zusammensetzung an.

Das Magnesiumsalz. Gefällt mit Magnesiumsulfat aus einer Lösung von α-Natriumsalz bildet es einen weissen, flockigen Niederschlag, welcher allmählich mehr compact wird, ohne selbst beim Kochen in der Flüssigkeit zusammenzuschmelzen. Dieser Niederschlag wurde abfiltrirt und in absolutem Alkohol aufgelöst, die Lösung filtrirt, zur Trockne eingedampft, der Rückstand pulverisirt und bei 100° getrocknet. Das Salz ist etwas löslich in Wasser und hat deshalb auch einen intensiv bittern Geschmack.

0.6575 gr. gaben nach Glühung 0,0335 gr. MgO (jedoch nicht frei von Schwefelsäure).

	In Procenten: Berechnet für $C_{27}H_{42}mgNO_5$:	Gefunden:
Mg	2,54	3,05

Das Bleisalz. Bleizuckerlösung erzeugt in einer Lösung von α-Natriumsalz, wenn beide Lösungen concentrirt sind, einen voluminösen Niederschlag, so dass die ganze Mischung zu einer reisbreiähnlichen Masse erstarrt. Bei Zusatz von Wasser wird der Niederschlag mehr körnig, und derselbe lässt sich dann leicht filtriren und auswaschen. Bei Erhitzung in der Flüssigkeit schmilzt der Niederschlag nicht im Geringsten. Nach Auspressung und Trocknung bei 100° gaben:

0,9755 gr. nach dem Glühen einen Rückstand von 0,2278 gr., entsprechend 21,67% Blei. Da das neutrale Salz $C_{27}H_{42}pbNO_5$ nur 18,36% Pb enthalten soll, so muss der Niederschlag wohl basisches Salz oder Oxydhydrat eingemischt enthalten haben.

Gundelach und Strecker kamen zu einem ganz gleichen Resultat. Dieselben fanden bei zwei Versuchen resp. 21,44 und 22,65% Blei.

Das Kupfersalz. Dieses scheint sich auf dieselbe Weise wie das ihm entsprechende β-Salz zu verhalten, indem es leicht Mischungen von saurer und basischer Beschaffenheit erzeugt. Das aus der Lösung des Natriumsalzes mittelst Kupfersulfat in geringem Ueberschuss niedergeschlagene und ausgewaschene Salz enthielt das eine Mal nach Trocknung bei 100° 11,31% Kupfer, das andere Mal nach Trocknung an der Luft 6,07% Kupfer. Das letztere, nach dem Kupfergehalt zu urtheilen, ungefähr neutrale Salz (die Formel $C_{27}H_{42}cuNO_6$ fordert 6,45% Cu) wurde in Alkohol gelöst und mit Aether niedergeschlagen. Der bei 100° getrocknete Niederschlag gab bei der Analyse 60,00% C, 8,52% H, 2,54% N und 9,20% Cu. Eine Probe von einer andern Bereitung gab ebenfalls 9,20% Cu. Diese Zahlen lassen sich indessen schwerlich auf eine andere Weise erklären, als dass die analysirte Substanz eine Mischung von neutralem mit basischem Salze oder mit Kupferoxydhydrat gewesen ist. Nachdem der Aether aus der alkohol-ätherischen Lösung abdestillirt worden, wurde die übrig gebliebene Lösung mittelst Wasser niedergeschlagen, der Niederschlag getrocknet und bis zu 90—95° erhitzt, wobei er nach und nach zu einem klaren, grünen Glase zusammenschmolz, das bei der Pulverisirung sich sehr elektrisch zeigte. Dieses Präparat war ohne Zweifel ein saures Salz oder eher eine Mischung von Salz und Säure. Seine Spirituslösung hatte nämlich eine stark saure Reaction und zeigte bei der Analyse einen Gehalt von nur 2,71% Kupfer.

Die freie α-Hyoglykocholsäure stimmte in Allem mit Gundelach's und Strecker's Beschreibung überein. In trocknem, pulverisirtem Zustand konnte sie bis auf ungefähr 130° erhitzt werden, ohne dass sie Spuren einer Schmelzung zeigte[1]); bei dieser Temperatur war das Pulver indessen

---

[1]) Gundelach und Strecker fanden dieselbe bei 120° noch fest.

in hohem Grade elektrisch, beinahe eben so sehr, wie die nach der Schmelzung pulverisirte Säure. Der Schmelzpunkt liess sich nicht exact bestimmen; bei einem Versuch (im Capillarröhrchen) schien die Säure erst bei 145—150° vollständig zu schmelzen, obschon sie bereits bei niedrigerer Temperatur halb geschmolzen zu sein schien. Sie schien schwerer zu schmelzen als die β-Säure.

Hammarsten[1]) sagt, dass es ihm mehrere Male gelungen sei, diese Säure in ziemlich grossen und charakteristischen Krystallen zu erhalten. Nach einigen misslungenen Versuchen glückte es auch mir, die Säure krystallisirt zu erhalten, indem ich zu einer Wasserlösung ihres Natriumsalzes vorsichtig etwas verdünnte Salzsäure zusetzte, bis eine bei Erwärmung nicht verschwindende Trübung entstand, nach Abkühlung Aether zusetzte, die Probirröhre lose mit einem Pfropfen schloss und mehrere Tage hindurch an einer kalten Stelle stehen liess, wo dann der Aether zum grössten Theil verdunstet war. Hierbei hatten sich Krystalle abgesetzt (in so geringer Menge, dass an eine Analyse der krystallisirten Säure nicht zu denken war), welche unter dem Mikroskop sich als sphärische Verwachsungen von radiär angeordneten, dünnen, aber bisweilen wohl ausgebildeten, deutlich doppelbrechenden Krystalltäfelchen erwiesen, die dem hexagonalen System anzugehören schienen.

Die α-Säure kann ebenso wenig und aus denselben Gründen wie die β-Säure mit Alkohol titrirt werden. Der Fehler scheint in beiden Fällen ungefähr gleich gross zu werden.

Die α-Säure ist etwas stärker rechtsdrehend als ihre Alkalisalze. Die specifische Rotation wurde, in absoluter Alkohollösung und bei einer Temperatur von ungefähr 24°, zu $(\alpha)_D = +9,7°$ bestimmt.

Das Verhalten der Säure zu Pettenkofer's Reaction ist bereits in dem Obigen erwähnt worden.

---

1) Nord. Med. Archiv, Bd. II, Heft 4, No. 24, S. 3, Note.

Analysen der α-Säure von verschiedenen Bereitungen gaben folgende Resultate:

A. Säure, geschmolzen (noch feucht) bei circa 100°, pulverisirt, über Schwefelsäure getrocknet und 0,1 % Asche enthaltend:

0,2793 gr. gaben 0,7158 gr. CO_2 und 0,2472 gr. H_2O.

B. Säure, gefällt mit Aether aus einer Alkohollösung und nachher getrocknet:

0,4424 gr. neutralisirten bei N-Bestimmung 10,5 cbcm. Säure = 0,01302 gr. N.

C. Säure, welche bei 140—150° geschmolzen war:

0,3207 gr. gaben 0,8287 gr. CO_2 und 0,2836 gr. H_2O.

0,2840 gr. neutralisirten bei N-Bestimmung 6,75 cbcm. Säure = 0,008203 gr. N.

D. Säure, geschmolzen bei 170°, pulverisirt, getrocknet bei 120—130°:

0,4436 gr. neutralisirten bei N-Bestimmung 11,1 cbcm. Säure = 0,013653 gr. N.

0,2282 gr. gaben 0,5911 gr. CO_2 und 0,2004 gr. H_2O.

In Procenten:

$C_{27}H_{43}NO_5$:	Berechnet:	Gefunden:			Gund. u. Str. (im Mittel):	Strecker allein:
C_{27} = 324	70,28	69,89	70,47	70,64	70,08	70,16
H_{42} = 43	9,33	9,83	9,82	9,76	9,65	9,51
N = 14	3,04	2,94	2,89	3,08	3,54	—
O_5 = 80	17,35	—	—	—	—	—
461	100,00					

Ist auch die α-Hyoglykocholsäure von einer Taurocholsäure begleitet? Es zeigte sich nämlich, dass das α-Natriumsalz trotz der oben beschriebenen umständlichen Reinigung etwas Schwefel enthielt:

0,5927 gr. gaben nach Schmelzung mit Natriumhydrat und Salpeter 0,0238 gr. $BaSO_4$ = 0,55 % Schwefel.

Dieser Schwefelgehalt konnte möglicherweise wenigstens zum Theil von der Bereitung herrühren, denn das Salz war ja zu wiederholten Malen mit Natriumsulfat niedergeschlagen worden, die angewandte Soda nicht vollständig schwefelfrei gewesen u. s. w. Aber derselbe konnte auch von einer Ein-

mischung einer Taurocholsäure herrühren. Um hierüber in das Klare zu kommen, unterwarf ich die ganze Quantität α-Salz (ungefähr 55 gr.), über welche ich verfügte, einer successiven Fällung mit Bleizucker, Bleiessig und Bleiessig + Ammoniak. Es zeigte sich hierbei, dass nach vollständigem Niederschlag mit Bleizucker die beiden andern Reagentien in dem amphoter, aber stärker sauer als alkalisch reagirenden Filtrat nur sehr unbedeutende Niederschläge hervorriefen. Diese wurden vereinigt und in Natriumsalz übergeführt. Das Natriumsalz wurde mittelst absolutem Alkohol gereinigt. Die ganze Quantität des Salzes überstieg sicherlich nicht 0,15 gr. Als die stark bitter schmeckende Wasserlösung des Salzes concentrirt wurde, erstarrte sie bei Abkühlung zu einem Brei, der unter dem Mikroskop die gewöhnlichen Häutchen, ausserdem aber auch eine grosse Menge runder Kugeln oder Tropfen zeigte. Die Lösung wurde übrigens von verdünnter Salzsäure (N/10) und gesättigten Salzlösungen niedergeschlagen und verhielt sich in allen Hinsichten wie eine Lösung gewöhnlichen α-Salzes, welches auch sicherlich ihren hauptsächlichsten Bestandtheil bildete. Der Schwefelgehalt jedoch war wesentlich vermehrt, denn

0,1283 gr. gaben 0,0148 gr. $BaSO_4$ oder 1,58% Schwefel.

Auf der andern Seite wurde der grosse Bleizuckerniederschlag in Natriumsalz übergeführt und von diesem dann ein Theil aus Wasser «umkrystallisirt», mit absolutem Alkohol gereinigt, bei 100° getrocknet und analysirt, wo

0,7479 gr. sodann 0,0216 gr. $BaSO_4$ oder 0,40% Schwefel gaben.

Ein anderer Theil wurde mit einer unzureichenden Menge Bleizucker umgefällt. Das aus dem hierbei erhaltenen Niederschlag dargestellte Natriumsalz enthielt nur 0,14% Schwefel, denn

0,4861 gr. gaben nur 0,0049 gr. $BaSO_4$.

Werden diese Facta mit dem Umstand zusammengestellt, dass es mir gelungen ist, auch aus der α-Säure wenigstens mit grösster Wahrscheinlichkeit Spuren von Taurin zu erhalten, so dürfte Grund zu der Annahme vorhanden sein, dass die α-Säure mit einer wenn auch nur sehr geringen Menge

Taurocholsäure bemengt gewesen ist. Inwiefern diese Säure nun mit derjenigen identisch ist, welche sich in der β-Säure findet, kann auf Grund der unvollständigen Untersuchungen natürlicherweise nicht entschieden werden. Dahingegen scheint die Menge der Taurocholsäure, welche in der β-Säure mitfolgt, viel grösser zu sein als die derjenigen in der α-Säure.

Strecker sagt, dass seine «Hyocholinsäure» frei von Schwefel gewesen sei. Auf der andern Seite aber führt er an, dass die Asche des Natriumsalzes «eine äusserst geringe Spur von Schwefelsäure» enthalten habe, auch erwähnt er, dass das Filtrat von dem Bleizuckerniederschlag von Bleiessig und Ammoniak gefällt wurde, Verhältnisse, welche der Annahme nicht zu widersprechen scheinen, dass auch sein Präparat Spuren von Hyotaurocholsäure enthalten habe[1]). Sicher aber ist dieses der Fall gewesen bei van Heijningen's und Scharlée's Untersuchungen[2]). Es ist ja übrigens auch keineswegs undenkbar, dass der Taurocholsäuregehalt der Schweinegalle je nach der Herstammung, Ausfütterung u. s. w. der Schweine etwas variirt.

Bei einer vergleichenden Zusammenstellung der im Obigen mitgetheilten Untersuchungen erweist es sich als unzweifelhaft, dass die beiden von mir mit α und β bezeichneten Glykocholsäuren der Schweinegalle zwar sehr nahe mit einander verwandt und einander sehr gleichartig sind, sich aber doch bestimmt von einander unterscheiden und sich in mehreren Hinsichten ungleich erweisen. Die Schweinegalle ist also die erste Säure, in welcher es geglückt ist, zwei verschiedene, gekoppelte Säuren mit (wie in dem Folgenden gezeigt werden wird) derselben stickstoffhaltigen Componente, hier Glykokoll, nachzuweisen. Dass das Verhältniss in der Galle des Ochsen und des Menschen ein gleichartiges ist, das ist wohl

---

1) Bei so geringen Mengen von Schwefel wie die hier in Frage stehenden tritt der $BaSO_4$-Niederschlag oft erst nach einer ziemlich langen Zeit auf, in Folge dessen ein Präparat leicht als schwefelfrei gelten kann, ohne es zu sein.

2) Vergl. Strecker, Ann. d. Chemie. Bd. 70. S. 186.

sehr wahrscheinlich oder so gut wie sicher, indem aus diesen Gallen ausser der Cholalsäure auch resp. Cholein- und Fellinsäure dargestellt worden ist, denen in der unveränderten Galle wohl besondere stickstoffhaltige Säuren entsprechen dürften, die bis jetzt aber noch nicht isolirt worden sind.

Abgesehen von dem ziemlich unbedeutenden Unterschied in der quantitativen Zusammensetzung, der hauptsächlich in einem etwas geringeren Kohlenstoffgehalt der β-Säure besteht, aber doch grösser ist, als dass er als innerhalb der Grenzen für die analytischen Fehler fallend bezeichnet werden kann, selbst dann, wenn es die Untersuchung so schwer in reinem Zustand zu erhaltender Stoffe wie die hier fraglichen gilt, sind die vornehmlichsten Unterschiede zwischen den beiden Säuren die folgenden:

Die α-Säure wird von verdünnten Säuren leichter gefällt als die β-Säure.

Die Alkalisalze der α-Säure lösen sich in kaltem Wasser viel schwerer als die der β-Säure, auch werden sie von gesättigten Salzlösungen weit leichter und vollständiger gefällt.

Das Barium- (Calcium-, Magnesium-) Salz der α-Säure löst sich nicht, wie das der β-Säure, in einem Ueberschuss von gallensaurem Salz, auch bildet es einen flockigen oder körnigen, aber keinen zähen, kleberigen Niederschlag.

Die Salze der α-Säure mit schweren Metallen schmelzen nicht, wie die der β-Säure, bei Erhitzung in der Flüssigkeit.

Das Natriumsalz der α-Säure ist, in Wasser aufgelöst, inactiv, das der β-Säure rechtsdrehend.

Die Alkalisalze der α-Säure haben einen rein bittern Geschmack, die der β-Säure einen erst deutlich süssen und nachher bittern.

Ein besonderes Interesse hat es für mich gehabt, das Verhalten der Natriumsalze gegen Lösungen von unorganischen, neutralen Alkalisalzen näher zu untersuchen, indem es gerade die Verschiedenheiten hierin sind, auf welche die von mir für die Trennung der beiden Säuren angewandte Methode sich gründet.

Bei den folgenden Versuchen wurden beide die gallensauren Natriumsalze in der Form von 1 procentigen Wasserlösungen angewandt:

1. **Das Verhalten gegen Natriumsulfat** (eine bei Zimmertemperatur gesättigte Lösung, von der 1 cbcm. 0,1634 gr. wasserfreies Salz enthielt). Temperatur 18—19°.

5 cbcm. α-Salz gaben mit 0,1—0,2 cbcm. Na_2SO_4 eine bei Umschüttelung verschwindende Trübung.

5 cbcm. α-Salz gaben mit 0,3 cbcm. Na_2SO_4 eine bleibende, sehr schwache Trübung.

5 cbcm. α-Salz gaben mit 0,4 cbcm. Na_2SO_4 eine deutliche, gelatinöse Trübung.

5 cbcm. α-Salz gaben mit 0,5 cbcm. Na_2SO_4 einen flockigen, sehr voluminösen Niederschlag von gelatinöser Beschaffenheit, so dass bei Umschüttelung Luftblasen in der etwas dickflüssigen Flüssigkeit zurückblieben.

Bei fernerem Zusatz von Na_2SO_4 nahm der Niederschlag an Menge zu, und nach einiger Zeit zeigte er sich weniger gelatinös und mehr flockig. Bei milder Erwärmung klärte sich die Flüssigkeit vollständig, bei Abkühlung aber kam der Niederschlag wieder zurück.

5 cbcm. α-Salz + 1 cbcm. Na_2SO_4 gaben einen reichen Niederschlag, welcher nach Zusatz von 5 cbcm. Wasser noch vorhanden war. Nach Zusatz von ferneren 5 cbcm. Wasser zeigte sich nur noch eine sehr schwache Trübung, die bei Zusatz von noch 0,8 cbcm. Na_2SO_4-Lösung deutlich wurde.

5 cbcm. α-Salz + 5 cbcm. Wasser mussten mit 0,8 cbcm. Na_2SO_4 versetzt werden, um dass eine schwache, bleibende Trübung entstand. Dahingegen war für 5 cbcm. α-Salz + 5 cbcm. β-Salz ein Zusatz von 1,95 cbcm. Na_2SO_4 erforderlich, ehe sich eine derartige Trübung zeigte; das β-Salz scheint also hier auf das α-Salz lösend zu wirken.

5 cbcm. β-Salz gaben mit 1—3 cbcm. Na_2SO_4 keine Trübung.

5 cbcm. β-Salz gaben mit 4—5 cbcm. Na_2SO_4 und mehr eine bei Umschüttelung wieder verschwindende Trübung.

5 cbcm. β-Salz gaben erst mit 10,4 cbcm. Na_2SO_4 eine schwache, b l e i b e n d e Trübung.

Bei einem zweiten Versuch forderten 5 cbcm. β-Salz 10,3 cbcm. Na_2SO_4, bei einem dritten 10 cbcm. β-Salz 20,8 cbcm. Na_2SO_4. Die Ergebnisse sind also ebenso constant wie bei einer gewöhnlichen Titrirung, dieses natürlich unter der Voraussetzung, dass die Temperatur constant ist. Diese war bei diesen Versuchen 18—19°, aber als sie sich auf 23—24° belief, forderten 5 cbcm. β-Salz, um eine permanente Trübung zu geben, 11,05 cbcm. Na_2SO_4, bei 15°[1]) dahingegen aber nur 9,3 bis 9,4 cbcm. Bei einem Zusatz von mehr Na_2SO_4 wurde die Trübung stärker, doch behielt sie den Charakter einer feinen Emulsion bei. Nach einer längern Zeit setzte sich der Niederschlag in Form einer am Boden und an den Wänden des Gefässes haftenden, aus feinen Tropfen bestehenden Belegung ab, sich vollständig von dem flockigen Niederschlag des α-Salzes unterscheidend. Der Unterschied im Aussehen dieser beiden Niederschläge ist so gross, dass sich auf Grund desselben sogar kleine Mengen α-Salz entdecken lassen. Bei mässiger Erwärmung klärt sich die trübe Flüssigkeit, um bei Abkühlung sich wieder zu trüben, ganz wie es beim α-Salz der Fall ist.

2. Das Verhalten gegen Chlornatrium.

a) Gesättigte Kochsalzlösung.

5 cbcm. α-Salz forderten, um einen gelatinösen Niederschlag zu geben, nur einen Tropfen NaCl-Lösung.

5 cbcm. β-Salz mussten, ehe eine bleibende Trübung sich zu bilden begann, mit 1 cbcm. NaCl-Lösung versetzt werden.

b) 1 Volumen gesättigte Kochsalzlösung + 1 Volumen Wasser.

5 cbcm. α-Salz wurden von einem Tropfen NaCl-Lösung gefällt.

5 cbcm. β-Salz forderten für eine permanente Trübung 2,9 cbcm. NaCl-Lösung.

---

1) Bei dieser Temperatur war indessen die Natriumsulfatlösung übersättigt und sie schied leicht Krystalle aus.

c) 1 Volumen gesättigte Kochsalzlösung + 3 Volumen Wasser.

5 cbcm. α-Salz forderten für eine nach Umschüttelung bleibende Trübung ungefähr 0,3 cbcm. NaCl-Lösung.

5 cbcm. β-Salz forderten 14,5 cbcm.

d) 1 Volumen gesättigte Kochsalzlösung + 7 Volumen Wasser.

5 cbcm. α-Salz gaben mit 0,6—0,8 cbcm. NaCl eine deutliche Trübung.

5 cbcm. β-Salz gaben noch nach Zusatz von 54 cbcm. NaCl-Lösung eine ganz klare Mischung.

Von einer Mischung von 1 Volumen gesättigte Kochsalzlösung mit 19 Volumen Wasser musste, um 5 cbcm. α-Salz deutlich zu trüben, 2 cbcm. zugesetzt werden; bei Zusatz von mehr Kochsalzmischung nahm die Trübung nur unbedeutend zu. Sehr verdünnte (zehntelnormale) Kochsalzlösung schlug die Lösung des α-Salzes nicht nieder.

3. **Das Verhalten gegen Natrium- und Kaliumnitrat.**

5 cbcm. α-Salz gaben mit 0,5 cbcm. einer 10procentigen Natriumnitratlösung eine stärkere Trübung als 5 cbcm. β-Salz mit 20 cbcm. derselben Lösung. Bei einem andern Versuch (die Volumen nicht abgemessen) wurde das β-Salz von der Natriumnitratlösung durchaus gar nicht niedergeschlagen, während das α-Salz sich als ein flockiger, leicht filtrirbarer Niederschlag absetzte.

Eine bei gewöhnlicher Temperatur gesättigte Kaliumnitratlösung fällte eine verdünnte Lösung von β-Salz gar nicht. (Wurde zu der klaren Mischung noch gesättigte Kochsalzlösung zugesetzt, so entstand dahingegen eine starke Trübung.) Das α-Salz hinwiederum wurde von dieser Lösung ebenso gut wie von den andern gefällt.

Des Vergleiches wegen wurde eine verdünnte Lösung gemischter ochsengallensaurer Natriumsalze untersucht. Diese Lösung (welche von verdünnten Säuren gefällt wurde) zeigte bei einem Zusatz von gesättigter Natriumsulfat- oder Kaliumnitratlösung keine Trübung, wohl aber bei einem Zusatz von

gesättigter Kochsalzlösung, dies jedoch nicht eher, als bis diese Lösung in vielfacher Menge zugesetzt worden war. Die dabei entstandene schwache Trübung oder Opalescenz verschwand sofort wieder, wenn einige Tropfen Wasser zugesetzt wurden.

Aus den nun angeführten Versuchen geht hervor, dass das Natriumsalz der α-Säure die bisher als für die Schweinegalle charakteristisch angesehene Eigenschaft, von concentrirten Neutralsalzlösungen gefällt zu werden, in einem bedeutend höheren Grade besitzt als das der β-Säure.

Zu den schon angeführten Beweisen für die Verschiedenheit der beiden Hyoglykocholsäuren dürfte inzwischen noch einer, und dazu einer der meist entscheidenden, gefügt werden können. Dieser ist dem Studium der Zersetzungsproducte der beiden Säuren zu entnehmen. Zeigen diese sich, unter der Voraussetzung einer gleichartigen Behandlung der beiden Säuren, deutlich verschieden, so ist auch das Material, aus dem sie dargestellt worden sind, mit Grund als verschiedenartig zu betrachten.

Ich habe deshalb zu diesem Zweck einige Versuche ausgeführt, über welche ich in dem Folgenden berichten werde.

Dass die Säuren der Schweinegalle bei Behandlung mit starken Basen sich in Uebereinstimmung mit den übrigen Gallensäuren in die entsprechende Cholalsäure, sowie in Glykokoll und Taurin zersetzen würden, war sehr wahrscheinlich. Strecker hat nachgewiesen, dass die α-Hyoglykocholsäure bei hinreichend intensiver Behandlung mit Kalilauge eine Hyocholalsäure erzeugt; den mit dieser verbundenen Component hat er zwar nicht im Zusammenhang damit dargestellt, dahingegen aber bei der Einwirkung von Salzsäure auf die Hyoglykocholsäure Glykokoll erhalten, welches also als der zweite Bestandtheil der natürlichen Schweinegalle zu betrachten wäre. Von Taurin sind, wie schon erwähnt, nur Spuren in der Schweinegalle erhalten worden.

Zur Decomponirung der Säuren der Schweinegalle habe ich mich theils concentrirter Kali- oder Natronlauge, theils

gesättigter Barytlösung bedient. Gilt es nur die fragliche Hyocholalsäure darzustellen, so hat die erstere Methode den Vorzug, indem die stickstoffhaltige Säure vollständiger von Kali oder Natron als von Baryt zerlegt wird. Aber will man auch den stickstoffhaltigen Component, das Glykokoll oder Taurin, untersuchen, so ist es schwer, diese Stoffe aus der alkalischen Lösung zu isoliren, sofern man zur Zersetzung nicht Baryt angewandt hat. In solchem Falle ist hinwiederum die gleichzeitig erhaltene Hyocholalsäure gewöhnlich einer erneuten Behandlung mit Alkali zu unterwerfen, um dieselbe von eingemischter stickstoffhaltiger (d. h. noch unzersetzter) Gallensäure zu befreien.

Aus einer grösseren Quantität β-hyoglykocholsauren Natriums (Reste, welche bei der oben beschriebenen, umständlichen Reinigung des genannten Salzes erhalten worden sind) wurde entsprechendes Bariumsalz mittelst Fällung mit Chlorbarium erhalten. Die Lösung wurde von dem zu einer zähen Masse zusammengeschmolzenen Niederschlag abgegossen, der Niederschlag in warmem, verdünnten Spiritus gelöst und die Lösung (durch einen warmen Trichter) in einen geräumigen Kolben hinabfiltrirt, wo das Bariumsalz bei Abkühlung wieder zum Theil als eine dickflüssige, zähe Flüssigkeit ausschied. In den Kolben wurde auch eine grössere Menge krystallisirtes Bariumhydrat gebracht und alles zusammen sodann im Wasserbad erhitzt. Nachdem der Alkohol verdünstet war, wurden nach und nach neue Mengen Bariumhydrat zugesetzt, bis die heisse Flüssigkeit dasselbe nicht länger aufzulösen vermochte. Das gallensaure Bariumsalz schied sich hierbei vollständig aus und bildete eine an den Wänden des Gefässes haftende, kleberige, gelbbraun gefärbte Schicht, welche, wie es den Anschein hatte, während des ganzen Versuches unverändert blieb. Um zu verhindern, dass der Inhalt des Kolbens allzu bald trocken kochte, wurde der Kolben mittelst eines Pfropfens verschlossen, durch den eine lange Glasröhre geschoben war, in welcher sich das abgedampfte Wasser condensirte und aus der es dann wieder in den Kolben zurückfloss. Nach einer Erhitzung von ungefähr 14 Stunden

wurde von dem gelbbraunen Bodensatz eine Probe genommen, welche bei Abkühlung sofort erstarrte, hart und spröde wurde und nach Kochen mit Soda eine Lösung gab, aus der sich mit Säuren ein weisser, flockiger, nicht, wie die β-Hyoglykocholsäure, gleich zusammenbackender Niederschlag erhalten liess, der bei Erhitzung mit Natronkalk nur Spuren von Ammoniak zeigte. Die Hauptmenge wurde indessen noch einen Tag über Wasserbad erhitzt. Der Inhalt des Kolbens zeigte fortfahrend dasselbe Aussehen, d. h. er bestand aus einer an den Wänden des Gefässes haftenden, gelbbraunen Masse und einer klaren, schwach gelb gefärbten Flüssigkeit. Diese wurde abgegossen, worauf sie bei Abkühlung Krystalle von Bariumhydrat in grosser Menge absetzte. Das Filtrat von diesen enthielt nur Spuren von gallensaurem Salz, denn Proben dieses Filtrates gaben bei Uebersättigung mit Säure nur eine Opalescenz oder einen äusserst geringen Niederschlag. Das Filtrat wurde mit etwas Wasser verdünnt und sodann durch wiederholte Einleitung von Kohlensäure von dem grössten Theil des Baryts befreit. Was von dem Baryt zurückgeblieben war, wurde durch vorsichtigen Zusatz von verdünnter Schwefelsäure und der kleine Ueberschuss von Schwefelsäure sodann durch Digestion mit Bariumcarbonat entfernt. Das zuletzt erhaltene, nur sehr schwach alkalisch reagirende Filtrat wurde stark concentrirt und mit einer grossen Menge 96procentigem Alkohol versetzt. Nach einiger Zeit trat Krystallisation ein, und nach ein paar Tagen hatte sich eine nicht unbedeutende Menge langer, feiner, prismatischer, farbloser Krystalle gebildet. Dieselben wurden abfiltrirt, mit Alkohol gewaschen und bei 100° getrocknet; die Masse verhielt sich wie Glykokoll, indem dieselbe einen süssen Geschmack hatte und Kupferoxydhydrat zu einer blauen Flüssigkeit auflöste, aus der bei Eindampfung feine, blaue Krystallnadeln erhalten wurden, doch zeigte sie sich ausserdem auch schwefelhaltig. Da also hier wahrscheinlich eine Mischung von Glykokoll und Taurin vorlag, so behandelte ich die krystallisirte Substanz mit Salzsäure, dampfte die Lösung zur Trockne ein und behandelte sodann den Rückstand mit absolutem Alkohol, der ihn, obschon ziem-

lich schwer und langsam, zum grössten Theil auflöste. Der vom Alkohol nicht aufgelöste Rest wurde von Neuem mit Salzsäure versetzt, dann eingedampft und nachher wieder mit Alkohol behandelt u. s. w., auf welche Weise es gelang, den bei Weitem grössten Theil der Substanz in alkoholische Lösung zu bringen. Diese Lösung krystallisirte bei Eindampfung in langen, platten, oft sternförmig gruppirten Prismen, die sich in Wasser mit grösster Leichtigkeit auflösten und unzweifelhaft aus chlorwasserstoffsaurem Glykokoll bestanden. Um aus ihnen reines Glykokoll darzustellen, wurde die stark sauer reagirende Wasserlösung mit soeben ausgefälltem Bleioxydhydrat gekocht. Das hierbei erhaltene klare und farblose Filtrat wurde mit Schwefelwasserstoffwasser in so geringem Ueberschuss wie möglich gefällt, filtrirt und eingetrocknet, wobei eine in Wasser leicht lösliche Substanz erhalten wurde. Durch Umkrystallisiren gereinigt, gab diese Substanz eine Lösung, aus der durch langsame Eindampfung farblose, wie Glas glänzende, harte, luftbeständige, sehr gut entwickelte rhombische Platten und Prismen erhalten wurden, von denen einige nahezu ein Centimeter lang waren. Zwischen Papier ausgepresst, gaben diese Prismen ein schneeweisses, süss schmeckendes Pulver, welches bei Erhitzung bis auf 100° so gut wie nichts (bei einem Versuch 0,07 %) an Gewicht verlor. Die Analyse des gehörig getrockneten Präparates gab folgendes Resultat:

0,2744 gr. gaben 0,3267 gr. CO_2 und 0,1737 gr. H_2O.

0,5397 gr. forderten bei N-Bestimmung 86,8 cbcm. Säure = 0,106764 gr. N.

0,2511 gr. gaben nach Schmelzung mit Soda und Salpeter 0,0023 gr. $BaSO_4$, entsprechend 0,0003 gr. S.

In Procenten:

		Berechnet für Glykokoll:	Gefunden:
C_2	24	32,00	32,43
H_5	5	6.67	7,03
N	14	18,67	18,10
O_2	32	42,66	(42,32)
	75	100,00	
(S		0	0,12)

Die Substanz war also Glykokoll, das nur Spuren von Schwefel, d. h. wahrscheinlich von Taurin, enthielt.

Behufs fernerer Gewissheit wurde aus derselben Glykokollkupferoxyd, das haarfeine, blaue Nadeln bildete, dargestellt und dasselbe, nachdem es durch Umkrystallisirung gereinigt worden war, nach Trocknung über Schwefelsäure analysirt:

0,1218 gr. verloren beim Erhitzen auf 103—105° 0,0094 gr. an Gewicht und gaben nach Glühung 0,0426 gr. Kupferoxyd.

In Procenten:

	Berechnet für $Cu(C_2H_4NO_2)_2 + H_2O$:	Gefunden:
Cu	27,57	27,91
H_2O	7,85	7,72

Der eben erwähnte, nach Behandlung mit Salzsäure in Alkohol ungelöste Rückstand wurde in Wasser gelöst, die concentrirte Lösung mit Salzsäure sauer gemacht und mit Alkohol in grossem Ueberschuss versetzt, wo sich dann allmählich lange, feine Krystallnadeln absetzten. Diese wurden gesammelt, zwischen Papier ausgepresst und wieder in Wasser gelöst; die Lösung gab beim freiwilligen Eintrocknen lange Nadeln, die den Glykokollkrystallen nicht glichen und keinen süssen Geschmack hatten. Dahingegen gab eine kleine Probe nach Schmelzung mit Soda + Salpeter starke Reaction mit Chlorbarium. Die Hauptmenge, welche jedoch nur 0,2176 gr. ausmachte, verlor bei Erhitzung auf 110° nicht merkbar an Gewicht. Da diese Substanz also ohne Zweifel Taurin war, so versuchte ich es, sie durch Ueberführung in die von Lang entdeckte Verbindung von Taurin und Quecksilberoxyd zu reinigen. Soeben gefälltes Quecksilberoxyd wurde zwar auch in nicht unbedeutender Menge in der Wasserlösung der Substanz gelöst, aber bei Aufkochung der filtrirten Lösung zeigte die Flüssigkeit sich nur opalescirend; der von Lang erwähnte weisse, schwere Niederschlag entstand nicht. Da ich es nicht wagte, mit dem geringen Material, worüber ich verfügte, verschwenderisch zu sein, so nahm ich von ferneren Versuchen in dieser Richtung Abstand, löste alles in Salzsäure und fällte das Quecksilber mit Schwefelwasserstoffwasser aus. Das Filtrat wurde bis auf ein sehr geringes Volumen eingedampft, wo dann das Taurin wieder in sehr feinen, farblosen, bis

ein paar Centimeter langen Nadeln auskrystallisirte. Diese Nadeln wurden vorsichtig zwischen Papier ausgepresst, pulverisirt, bei 100° getrocknet und analysirt:

0,1174 gr. gaben nach Schmelzung mit Soda und Salpeter 0,2225 gr. $BaSO_4$, entsprechend 0,030558 gr. S oder 26,03 %. Die Formel $C_2H_7NSO_3$ fordert 25,60 % Schwefel.

Das reine Material war für mehrere Bestimmungen nicht ausreichend. Aus den Mutterlaugen und Resten wurde noch eine kleine Quantität von Taurinkrystallen (nur 0,0573 gr.) erhalten, welche aber bedeutend verunreinigt waren und eine gelbliche Farbe hatten. Eine mit ihnen mehr in qualitativer als quantitativer Hinsicht vorgenommene Stickstoffbestimmung gab zwar, wie zu erwarten war, ein allzu niedriges Resultat (6,8 anstatt 11,2 %), zeigte auf alle Fälle aber, dass die Substanz stark stickstoffhaltig war.

Die Darstellungsweise, die Eigenschaften, vor Allem aber der Schwefelgehalt des untersuchten Stoffes charakterisiren denselben inzwischen hinreichend und unzweideutig als Taurin. Die Möglichkeit, diesen Stoff auch aus der Galle des Schweines zu erhalten, voraus sehr wahrscheinlich, dürfte also jetzt als vollständig bewiesen betrachtet werden können. Aus dem Obigen geht übrigens hervor, dass die erhaltene Menge Taurin im Vergleich mit der des gleichzeitig gebildeten Glykokolls sehr gering war.

Bei der Zersetzung von α-hyoglykocholsaurem Barium mittelst einer warmen gesättigten Barytlösung war der Verlauf ganz mit dem soeben beschriebenen übereinstimmend. Der einzige Unterschied war der, dass das als Endproduct erhaltene unlösliche Bariumsalz auch in Wärme eine härtere und festere Consistenz als das aus dem β-Salz dargestellte hatte. Aus der von ihm abgegossenen, von auskrystallisirtem Bariumhydrat abgesiehenen Lösung wurde der Baryt durch vorsichtigen Zusatz von Schwefelsäure, und der Ueberschuss von dieser sodann durch Digestion mit Bariumcarbonat entfernt. Die filtrirte, stark concentrirte, schwefelsäurefreie Lösung wurde mit dem 10—12 fachen Volumen 96 procentigen Alkohols untermischt, wo dann nach kurzer Zeit eine reiche,

voluminöse, aus langen, feinen Nadeln bestehende Krystallisation entstand. Die Krystalle wurden sanft ausgepresst, an der Luft getrocknet und aus Wasser umkrystallisirt, wobei dieselben als harte, dicke, farblose, glasglänzende rhombische Prismen auftraten, die in Allem dem Glykokoll ähnelten und einen süssen Geschmack hatten. Nach noch einer Umkrystallisirung und Auspressung zwischen Papier wurden sie mit folgendem Resultat analysirt:

0,3144 gr. verloren bei Erhitzung auf circa 95° nur 0,0004 gr. an Gewicht.
0,2659 gr. gaben 0,3184 gr. CO_2 und 0,1721 gr. H_2O.
0,1348 gr. neutralisirten bei der N-Bestimmung 20,24 cbcm. Säure = 0,024895 gr. N.

In Procenten:

		Berechnet für Glykokoll:	Gefunden:
C_2	24	32,00	32,65
H_5	5	6,67	7,19
N	14	18,67	18,47
O_2	32	42,66	—
	75	100,00	

Zwei verschiedene Prüfungen auf Schwefel zeigten übereinstimmend, dass die Substanz von diesem Stoffe vollständig frei war.

Aus der Mutterlauge der analysirten Krystalle wurde durch Erwärmen mit eben gefälltem Kupferhydrat und durch Eindampfen der erhaltenen blauen, filtrirten Lösung Glykokollkupferoxyd in der Form von feinen, blauen Krystallnadeln dargestellt und dieses dann, nach Auspressung und Trocknung über Schwefelsäure, analysirt:

0,5963 gr. verloren bei Erhitzung auf 110° 0,0448 gr. an Gewicht. Dieser Gewichtsverlust entspricht 7,51 % Wasser, während die Formel $Cu(C_2H_4NO_2)_2 + H_2O$ 7,85 % fordert.
0,1939 gr. wasserfreier Substanz gaben bei Glühung 0,073 gr. CuO.
0,2130 gr. neutralisirten bei der N-Bestimmung 22,6 cbcm. Säure = 0,027823 gr. N.

In Procenten:

	Berechnet für $Cu(C_2H_4NO_2)_2$:	Gefunden:
Cu	29,92	30,04
N	13,26	13,06

Auf meinen Wunsch hat Herr Professor W. C. Brögger an der Hochschule zu Stockholm die Güte gehabt, die auf die jetzt beschriebene Weise aus der β- und der α-Hyoglykocholsäure erhaltenen Glykokollkrystalle von seinem Amanuensis Herrn C. Morton krystallographisch untersuchen und mit einander vergleichen zu lassen. Bei dieser Untersuchung, für welche ich hiermit bitte, den Herren Brögger und Morton meinen aufrichtigen Dank aussprechen zu dürfen, zeigte es sich, dass beide Krystallproben hinsichtlich der Krystallform identisch waren und in ihrer Form vollständig mit ältern Angaben über die Krystallform des Glykokolls übereinstimmten.

Es ist also ausser allen Zweifel gestellt, dass beide in der Schweinegalle in bedeutenderer Menge vorkommenden Säuren Glykokollverbindungen sind und sie den Namen Hyoglykocholsäure somit mit Recht verdienen. Die Verschiedenheit zwischen ihnen muss also entweder darauf beruhen, dass die in sie eingehenden stickstofffreien Componenten ungleichartig sind, oder auch ist sie möglicherweise durch die Art und Weise bedingt, auf welche Glykokoll und Cholalsäure in ihnen mit einander eine Verbindung eingehen. Wie im Folgenden gezeigt werden wird, ist es die erstere Alternative, welche hier vorliegt. Die Galle des Schweines giebt, ebenso wie die des Ochsen und des Menschen nach den neuesten Untersuchungen, wenigstens zwei verschiedene Cholalsäuren.

Dass die β-Hyoglykocholalsäure Taurocholsäure eingemischt enthält, ist bereits erwähnt worden, und den Anlass, dies zu untersuchen, gab gerade der eben beschriebene Fund von Taurin unter den Decompositionsproducten dieser Säure. Bei der Zersetzung der α-Säure aber wurde vollständig schwefelfreies Glykokoll so gut wie unmittelbar erhalten, und ich hatte daher keinen Anlass, im Zusammenhang damit nach Taurin zu suchen. Da es sich indessen gezeigt hatte, dass auch die α-Säure etwas Schwefel enthielt, so behandelte ich von Neuem eine ziemlich grosse Quantität[1]) α-Bariumsalz

[1]) Dieselbe wurde leider nicht gewogen, doch dürften es 30—40 gr. gewesen sein.

mit Barythydrat in der Absicht, wenn möglich, aus demselben Taurin zu erhalten. Die nach der beinahe vollständigen Entfernung des Baryts (die Lösung war fortfahrend schwach alkalisch von $Ba(OH)_2$) ausgefällten Krystalle wurden in Wasser gelöst, mit (schwefelsäurefreier) Salzsäure versetzt und zur Trockne eingedampft. Der krystallinische Rückstand wurde mehrere Male mit absolutem Alkohol behandelt, in welchem er sich allmählich beinahe vollständig löste. Das, was nach einigen solchen Behandlungen sich noch nicht gelöst hatte und worin das Taurin, wenn solches zugegen war, sich concentrirt haben musste, wurde (mit stark saurer Reaction) in Wasser gelöst und mit Alkohol in grossem Ueberschuss versetzt. Aber selbst nach 24 Stunden zeigte sich noch nicht eine Spur von Krystallisation. War Taurin zugegen, so konnte es also nur in einer äusserst geringen Menge sein. Die ganze Lösung wurde nun zur Trockne eingedampft, der strahlig krystallinische, hauptsächlich aus Glykokollchlorhydrat bestehende Rückstand in Wasser gelöst, mit (schwefelfreiem) Natriumhydrat und Salpeter versetzt, eingetrocknet und in einem silbernen Gefäss geschmolzen. Als die geschmolzene Masse in Wasser gelöst wurde, verblieb ein weisses Pulver ungelöst, und dasselbe löste sich auch dann nicht, als die Lösung mit Salzsäure sauer gemacht worden war. Dieses Pulver, dessen Menge gering war und nur einige Centigramm betrug, verhielt sich wie Bariumsulfat; das Filtrat davon enthielt keine Schwefelsäure, wohl aber Barium. Die von der Bereitung herrührende kleine Barytmenge war also mehr als hinreichend gewesen, alle die Schwefelsäure auszufällen, welche bei der Verbrennung entstanden war und welche, so viel ich verstehen kann, nicht gern von etwas Anderem als einer, von dem decomponirten α-Bariumsalz herstammenden, freilich sehr geringen Menge Taurin herrührte.

Wie bereits erwähnt worden ist, gelingt es schwerlich, die Hyoglykocholsäuren mittelst Behandlung mit Bariumhydrat vollständig zu decomponiren; hierzu ist eine Behandlung mit Natronlauge zweckentsprechender. Die Erwärmung im

Wasserbad muss im Allgemeinen mehrere Tage fortgesetzt werden, und da sowohl die hyoglykocholsauren wie die hyocholalsauren Natriumsalze in Natronlauge unlöslich sind, so kann man die Einwirkung der letztern auf geeignete Weise erleichtern, indem man die Lauge dann und wann abgiesst, das Natriumsalz in etwas Wasser auflöst und dann die Lauge wieder zumischt, wobei das Natriumsalz wieder ausgefällt wird, jetzt aber feiner zertheilt, so dass es der Einwirkung des Alkalis mehr ausgesetzt ist als voraus. Die einzige sichere Weise, sich davon zu überzeugen, dass die Hyoglykocholsäure sich vollständig in Hyocholalsäure umgewandelt hat, ist die Untersuchung des Stickstoffgehalts der ausgefällten Säure; natürlicherweise muss dieser = 0 sein, ehe die Behandlung abgeschlossen werden darf. Hat die Einwirkung aufgehört, so wird die Lauge, welche gewöhnlich nur eine sehr geringe Menge Hyocholalsäure aufgelöst enthält, abgegossen; die im Kolben zurückbleibende gelbbraune, kleberige, bei Abkühlung schnell hart werdende Masse wird in Wasser gelöst und die Lösung mit Salzsäure gefällt, wo dann ein sehr voluminöser, nicht zusammenbackender, bei Erhitzung in der Flüssigkeit schmelzender Niederschlag von Hyocholalsäure entsteht.

Die auf diese Weise aus der α- und der β-Hyoglykocholsäure dargestellten Hyocholalsäuren zeigten mit einander eine grosse Uebereinstimmung, waren aber nicht identisch. In Uebereinstimmung mit der voraus angewandten Bezeichnung werde ich sie im Folgenden durch die Buchstaben α und β unterscheiden.

Die α-Hyocholalsäure ist voraus von Strecker[1]) dargestellt worden, welcher auf Grund von Analysen der Säure und ihres Bariumsalzes, sowie anlässlich ihrer Relation zur Hyocholinsäure für sie die Formel $C_{25}H_{40}O_4$ aufstellte. Er giebt an, sie bei langsamer Eindampfung ihrer Aetherlösung «in rundlichen Krystallen» (?) von der Grösse eines Stecknadelknopfes, dahingegen bei Zusatz von Wasser zu einer verdünnten Lösung in Alkohol + Aether zuweilen in

---

[1]) Ann. d. Chem., Bd. 70, S. 192—195.

mikroskopischen, sechsseitigen Platten erhalten zu haben, erklärt aber dabei, dass die Säure «nur geringe Neigung zu krystallisiren» habe. Mir ist es nicht geglückt, die Säure krystallisirt zu erhalten, obschon ich dieses Ziel auf verschiedenen Wegen zu erreichen gesucht habe.

Ausgefällt aus der Wasserlösung des Natriumsalzes mittelst Salzsäure bildet die α-Hyocholalsäure einen weissen, dicken, anfangs äusserst voluminösen Niederschlag (so dass bei mässig concentrirten Lösungen die ganze Flüssigkeit zu einem Brei erstarrt), der nach und nach mehr feinkörnig und compact wird und ohne Schwierigkeit sich filtriren und waschen lässt. Nach starker Auspressung bildet die Säure weisse Klumpen, die bei gelinder Erwärmung im Wasserbad unter Ausscheidung von Wasser zu einer in der Wärme zähen und fadenziehenden, gelblichen, seidenglänzenden Masse zusammenschmelzen, welche bei Abkühlung sofort hart und spröde wird und dann leicht pulverisirt werden kann. Diese pulverisirte, völlig trockene Säure schmilzt nicht in Wasserbadwärme, auch nicht, wenn das Gefäss, in welchem sie verwahrt ist, in kochendes Wasser gesenkt wird, wohl aber, wenn man sie im Trockenschrank auf 100° erhitzt[1]), und man erhält dann bei Abkühlung einen klaren, gelben, spröden, harzähnlichen Stoff, welcher bei Pulverisirung sich im höchsten Grad elektrisch erweist. Die Säure ist leicht löslich in Alkohol und auch in Aether, so dass sie nicht, gleich der α-Hyoglykocholsäure, aus der Spirituslösung mit Aether gefällt wird. Sie wird auch in Eisessig und natürlich auch leicht von verdünnten Alkalien und Alkalicarbonaten gelöst. In Wasser ist sie ebenfalls etwas löslich, und dies in höherem Grade in warmem als in kaltem. Wird die pulverisirte Säure auf blaues Lackmuspapier gelegt und mit Wasser befeuchtet, so färbt das Papier sich stark roth. In Folge ihrer Löslichkeit hat die Säure auch einen ausgeprägt bittern Geschmack. Ihre

[1]) Dies beruht natürlicherweise darauf, dass das Thermometer des Trockenschrankes in der Regel eine etwas niedrigere Temperatur ergiebt als diejenige, welche in dem untern Theil des Schrankes, wo die erhitzten Substanzen placirt sind, herrschend ist.

Alkohollösung ist rechtsdrehend; die spec. Rotation wurde zu $(\alpha)_D = +5{,}9^\circ$ (im Mittel von 2 Versuchsserien) bestimmt. Die Hyocholalsäure lässt sich ebenso wenig als die gekoppelte Schweinegallensäure titriren.

Die jetzt gegebene Beschreibung passt auch in allem Wesentlichen für die aus der β-Hyoglykocholsäure dargestellte β-Hyocholalsäure. Diese Säure schmolz etwas leichter[1]), auch war sie in einem noch höheren Grade elektrisch als die α-Hyocholalsäure, und ihre spec. Rotation wurde in zwei Versuchsserien zu $(\alpha)_D = +6{,}3^\circ - +7{,}3^\circ$ bestimmt, im Uebrigen aber zeigte sie die grösste Aehnlichkeit mit der α-Säure. Dahingegen zeigen die Salze der beiden Säuren augenscheinliche und bestimmte Verschiedenheiten. Ich habe in dieser Hinsicht besonders die Natriumsalze untersucht.

Das α-Natriumhyocholalat scheidet sich aus einer warmen, concentrirten Wasserlösung bei Abkühlung in Form von weissen Flocken ab, welche unter dem Mikroskop sich aus gefalteten Häutchen bestehend zeigen, die in ihrem Aussehen denjenigen ähneln, in deren Form das entsprechende hyoglykocholsaure Natriumsalz auftritt, und welche, gleich diesem Salze, anfangs zu zähen, später spröden, durchscheinenden Massen zusammentrocknen. In Alkohol ist das Salz dahingegen sehr leicht löslich.

Das Natriumsalz der β-Hyocholalsäure zeigt aber ein entgegengesetztes Verhalten. Wenn eine alkoholische Lösung

---

1) Der Unterschied ist jedoch sehr unbedeutend. Die Schmelzpunkte der Hyocholalsäure, ebenso wie die der Hyoglykocholsäuren, lassen sich nicht exact bestimmen, indem diese Substanzen allmählich in den flüssigen Zustand übergehen und nach der Erstarrung fortfahrend klar und durchscheinend sind. Bei Versuchen mit Erhitzung sorgfältig getrockneter, pulverisirter Säure in Capillarröhren habe ich zu finden geglaubt, dass die α-Hyocholalsäure bei ungefähr 106° zu schmelzen begann und bei ungefähr 112° vollständig geschmolzen war, während die entsprechenden Zahlen für die β-Säure 103—107° waren; auf Genauigkeit aber können diese Zahlen keinen Anspruch machen. Wenn geschmolzene Proben von der α- und der β-Hyocholalsäure pulverisirt und dann gleichzeitig im Trockenschrank, dessen Thermometer +85° zeigte, erhitzt wurden, so verblieb die erstere Säure unverändert, während die letztere allmählich vollständig schmolz.

des rohen Salzes concentrirt wird, so scheidet die Natriumverbindung als Krystalle aus, die nicht selten so gross sind, dass sie sich mit dem blossen Auge wahrnehmen lassen. Unter dem Mikroskop zeigt sich dieser krystallinische Niederschlag aus ziemlich grossen, scheinbar rectangulären, sehr dünnen Tafeln bestehend. Bei Eindampfung der alkoholischen Mutterlauge werden wieder neue Portionen krystallisirten Salzes erhalten. Dieses ist so gut wie unlöslich in absolutem Alkohol, bei Zusatz von nur wenig Wasser aber löst es sich leicht. Die Alkohollösung wird von Aether gefällt; der pulverförmige Niederschlag zeigt unter dem Mikroskop sehr kleine, runde Körner, ohne deutliche Krystallform. In Wasser löst das krystallisirte Natriumsalz sich sehr leicht; die concentrirte Lösung setzt nicht eher Salz ab, als bis sie beinahe bis zur Trockne eingedampft ist, wo dann in dem syrupösen Rückstand Krystallisationen auftreten, die unter dem Mikroskop sich aus dünnen, vier- oder sechsseitigen Tafeln bestehend zeigen, welche den aus der Alkohollösung auskrystallisirten sich ähnlich erweisen.

In seinem Verhalten zu den meisten Reagentien stimmen die Natriumsalze der α- und der β-Hyocholalsäure beinahe ganz überein. Zu den in dem Folgenden angeführten vergleichenden Versuchen wurden von beiden Salzen 1 procentige Lösungen angewandt. Diese Lösungen hatten schwach, aber deutlich alkalische Reaction und einen stark bittern Geschmack. Zu einem Cubikcentimeter von der Lösung wurden 1—2 Tropfen des angewandten Reagens gegeben. Mit Chlorbarium (Chlorcalcium, Magnesium- und Zinksulfat) entstand hierbei ein flockiger, bei Erhitzung in der Flüssigkeit schmelzender Niederschlag. Die meisten Salze von schweren Metallen (Silbernitrat, Kupfersulfat, Kobalt- und Nickelnitrat, Mangan- und Ferrosulfat, Zinnchlorur, Bleiessig) gaben sehr voluminöse, gelatinöse Niederschläge, welche bei Aufkochung mehr schwer und compact wurden, aber nicht schmolzen. Quecksilbernitrat, Alaun und Chromalaun gaben dahingegen bei Erhitzung schmelzende Niederschläge. Eisenchlorid erzeugte einen hellgelben, gelatinösen Niederschlag, welcher beim Kochen dunkler

und mehr pulverförmig wurde. Quecksilberchlorid gab in Kälte nur eine sehr unbedeutende Trübung, welche bei Erwärmung aber zunahm, so dass die ganze Flüssigkeit milchig wurde. Bleizucker rief gelatinöse, beim Kochen schmelzende Niederschläge hervor. Eine gesättigte Lösung von Dinatriumphosphat schlug keines der Salze nieder. Wurde die Phosphatlösung mit so viel verdünnter Phosphorsäure versetzt, dass die Reaction nur sehr wenig sauer oder beinahe amphoter wurde, so waren hinwiederum nur ein paar Tropfen erforderlich, um 1 cbcm. von der Lösung des α-Salzes in einen gelatinösen, zusammenhängenden Klumpen zu verwandeln, der bei Erwärmung oder Zusatz von Wasser sich löslich zeigte, während dagegen 1,5—2 cbcm. Phosphatlösung nothwendig waren, um einen permanenten Niederschlag in 1 cbcm. β-Salzlösung hervorzurufen[1]). In demselben Verhältniss, in welchem der Säuregrad der Phosphatlösung ein grösserer wurde, gewann die Wirkung der Lösung auf die beiden Salze an Gleichartigkeit.

Noch deutlicher hervortretende Verschiedenheiten zeigten die Lösungen der beiden Natriumsalze in ihrem Verhalten zu Lösungen von neutralen Salzen (Natriumsulfat, Chlornatrium, Kaliumnitrat) und von Alkalien.

1. Bei circa 15° gesättigte Lösung von Natriumsulfat.

5 cbcm. α-Salz gaben mit 1 cbcm. Na_2SO_4 schwache, bei Umschüttelung verschwindende Trübung.

5 cbcm. α-Salz gaben mit 1,5 cbcm. Na_2SO_4 äusserst schwache, bleibende Opalescenz.

5 cbcm. α-Salz gaben mit 1,7—2 cbcm. Na_2SO_4 schwache, bleibende Trübung.

5 cbcm. α-Salz gaben mit 2,5—3 cbcm. Na_2SO_4 eine etwas dickflüssige Mischung.

5 cbcm. α-Salz gaben mit 5 cbcm. Na_2SO_4 eine dickflüssige, gelatinöse Mischung, welche bei mässiger Erwärmung

---

[1]) In Uebereinstimmung hiermit wurde eine Lösung des α-Salzes leichter als eine des β-Salzes von normalem, saurem Urin gefällt, während alkalisch reagirender Urin keine derselben fällte.

sich klärte; bei Abkühlung trat wieder ein feinflockiger Niederschlag auf.

5 cbcm. β-Salz wurden nicht einmal nach Zusatz von 30 cbcm. Na_2SO_4 getrübt.

2. Gesättigte Kochsalzlösung.

5 cbcm. α-Salz + 1 Tropfen bis 0,1 cbcm. NaCl = deutlicher, flockiger Niederschlag, welcher sich bei Schüttelung nur unvollständig wieder löst.

5 cbcm. α-Salz + 0,2 cbcm. NaCl = starker, flockiger Niederschlag, welcher bei Erwärmung sich löst, bei Abkühlung wiederkommt.

5 cbcm. β-Salz + 0,1—0,7 cbcm. NaCl = feine Trübung, welche bei Schüttelung verschwindet.

5 cbcm. β-Salz + 0,7—0,8 cbcm. NaCl = sehr schwache, bleibende Trübung.

5 cbcm. β-Salz + 0,9—1 cbcm. NaCl und mehr = starker, emulsionsartiger Niederschlag, welcher bei Aufkochung schmilzt und zum Theil an die Oberfläche der Flüssigkeit aufsteigt, sich aber nicht löst.

3. Mischung von 1 Volumen gesättigter Kochsalzlösung und 3 Volumen Wasser.

5 cbcm. α-Salz forderten 0,3 cbcm. NaCl, ehe ein schwacher, bleibender Niederschlag entsand. Nach Zusatz von 1 cbcm. NaCl war die ganze Flüssigkeit dick von einem flockigen Niederschlag angefüllt.

5 cbcm. β-Salz gaben noch mit 5 cbcm. NaCl keinen permanenten Niederschlag; mit 5,2—5,3 cbcm. wurde eine deutliche Trübung erhalten, die bei Erhitzung eher noch an Stärke zunahm.

4. Bei ungefähr 13° gesättigte Lösung von Kaliumnitrat.

5 cbcm. α-Salz gaben mit 1,3 cbcm. KNO_3 eine schwache, aber deutliche Trübung. Mit 2 cbcm., deutlicher aber noch bei grösserem Zusatz entstand ein voluminöser, gelatinösflockiger Niederschlag, der bei Erwärmung löslich war.

5 cbcm. α-Salz gaben mit 30 cbcm. KNO_3 eine kaum wahrnehmbare, mit 35 cbcm. aber eine deutliche, beim Kochen nicht verschwindende Opalescenz.

5. Gesättigte Sodalösung.

2 cbcm. α-Salz gaben mit ungefähr 0,5 cbcm. einen flockigen, permanenten Niederschlag.

2 cbcm. β-Salz forderten über 2 cbcm. Na_2CO_3, um eine permanente, emulsionsartige Trübung zu geben.

Bei Erwärmung lösten sich beide Niederschläge, um bei Abkühlung mit dem früheren Aussehen wieder aufzutreten.

Auf ganz dieselbe Weise wie die Sodalösung verhielt sich (10procentige) Natronlauge.

Die Natriumsalze der Hyocholalsäuren zeigen also gegen neutrale Salzlösungen ein Verhältniss, welches dem von den entsprechenden gekoppelten Gallensäuren gegen diese Lösungen gezeigten vollständig analog ist.

Gegen Säuren verhielten die beiden Natriumsalze sich gleichartig. Bei vorsichtigem Zusatz von schwacher ($^1/_{10}$normaler) Salzsäure löste die niedergeschlagene Hyocholalsäure sich anfangs wieder, doch hörte dieses bald auf, und die ganze Flüssigkeit trübte sich von ausgefällter Säure, während ihre Reaction fortfahrend alkalisch war. Diese Trübung blieb auch bei Erwärmung. Ein fernerer Zusatz von Salzsäure gab einen reichen, flockigen Niederschlag, der sich nur mit Schwierigkeit in einem grossen Ueberschuss von starker Salzsäure löste. Die ausgefällten Hyocholalsäuren lösten sich dahingegen leicht in concentrirter Essigsäure. Von concentrirter Schwefelsäure wurden sie, gleich andern Gallensäuren, mit klar gelber, bei gelinder Erwärmung mehr rothgelber Farbe und stark moosgrüner Fluorescenz gelöst.

In ihrem Verhalten zu Pettenkofer's Reaction stimmen die beiden Hyocholalsäuren mit einander und, wie es den Anschein hat, auch in hohem Grade mit der von Schotten[1]) beschriebenen Fellinsäure überein. Die Reaction misslingt

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XI, S. 268.

gewöhnlich, wenn sie durch Zusatz von concentrirter Schwefelsäure zu der mit Rohrzucker versetzten Gallensäurelösung oder auch nach Neukomm's Modification ausgeführt wird. Wendet man hinwiederum eine mit ihrem halben Volumen Wasser verdünnte Schwefelsäure an und wärmt man die Mischung sodann vorsichtig, so erhält dieselbe allmählich eine dunkle, kirschrothe bis violette Farbe, die sich in ihrer Nuance von derjenigen unterscheidet, welche bei einer auf gleiche Weise ausgeführten Reaction die aus der Ochsengalle dargestellte, reine (vielleicht doch choleinsäurehaltige), krystallinische Cholalsäure, die des Vergleiches wegen gleichfalls untersucht wurde, zeigt. Ebenso zeigten die gefärbten Lösungen auch ein verschiedenes Verhalten bei spectroskopischer Prüfung. Die aus der Hyocholalsäure (gleichviel ob der α- oder der β-Säure) dargestellte Lösung zeigte eine starke diffuse Absorption im Grünblau und dasselbe deutliche Band im Orange (bei 22,9), von dem oben bei den gepaarten Säuren die Rede gewesen ist. Die gewöhnliche Cholalsäure hinwiederum gab eine mehr rosenroth gefärbte Lösung, die im Spectroskop ein gut markirtes Band im Gelbgrün, etwas rechts von D (bei 21,87), eine breite, starke Absorption im Grünblau (deren Mitte ungefähr bei 19,08, d. h. bei E lag), und ein sehr schwaches, undeutliches Band im Blau (ungefähr bei 16,2[1]) zeigte. — Wurde die Reaction in Gemässheit mit der von Schotten für die Fellinsäure anempfohlenen Weise[2]) ausgeführt, d. h. durch Bestreichung eines mit einer Mischung von hyocholalsaurem Salze und Rohrzucker getränkten und dann getrockneten Streifens Filtrirpapier mit concentrirter Schwefelsäure, so trat die violette Farbe nach kurzer Zeit sehr deutlich hervor.

---

1) Dieses Spectrum unterschied sich also bedeutend von den gewöhnlichen Angaben über die Lichtabsorption der durch Pettenkofer's Reaction entstehenden farbigen Lösung. Wahrscheinlich entstehen bei dieser Reaction verschiedene Farbstoffe, je nach den Proportionen, der Temperatur u. s. w. der Reagentien, und diese Verhältnisse dürften wohl einer näheren Untersuchung werth sein.

2) Zuerst beschrieben von Strassburg in Pflüger's Archiv, Bd. IV S. 461, und von ihm angewandt, um Gallensäuren im Urin nachzuweisen.

Zu polarisirtem Lichte verhalten sich Lösungen von α- und β-hyocholalsaurem Natron verschiedenartig. Eine Wasserlösung vom α-Salz, die in Wärme bereitet und nach Abkühlung bis auf ungefähr 17° von dem abgesetzten Salz abfiltrirt war, erwies sich schwach linksdrehend (die spec. Rotation wurde zu $(\alpha)_D = -2{,}09°$ bestimmt[1]). Eine Alkohollösung von diesem Salze war dahingegen dextrogyr [$(\alpha)_D = +6{,}2°$]. Das krystallisirte β-Salz hinwiederum zeigte sich, gleich den andern gallensauren Salzen, in sowohl Wasser- wie Alkohollösungen rechtsdrehend, und die spec. Rotation der erstern Lösungen wurde zu $(\alpha)_D = +4{,}25°$, die der letztern zu $(\alpha)_D = +6{,}56°$ bestimmt[2]).

Die beiden Hyocholalsäuren unterscheiden sich also bestimmt von einander durch die verschiedene Löslichkeit ihrer Natriumsalze in Wasser und Alkohol, das verschiedenartige Verhalten dieser Salze zu gesättigten Salzlösungen und die verschiedenartigen optischen Eigenschaften derselben. Die Verschiedenheiten in der procentischen Zusammensetzung sind dahingegen von geringer Bedeutung. Die Analysen gaben folgende Resultate:

A. Für die α-Hyocholalsäure und deren Verbindungen:

Natriumsalz, dargestellt durch Lösung der Säure in Na_2CO_3, Eintrocknung, Extraction mit Alkohol und Fällung mit Aether. Der zu einer zähen Masse zusammenbackende Niederschlag ging in einem Falle nach der Einwirkung von Aether während einer längeren Zeit in einen krystallinischen über, der aus einer Häufung undeutlicher, mikroskopischer

[1]) Da eine so schwache Drehung bei dem angewandten Instrument beinahe innerhalb der Grenzen der Observationsfehler fällt, so würde ich es nicht gewagt haben anzunehmen, dass die betreffende Lösung, im Gegensatz zu allen andern gallensauren Salzen, linksdrehend ist, sofern nicht mehrere verschiedene Serien von Versuchen mit Material von verschiedener Bereitung völlig übereinstimmende Resultate gegeben hätten.

[2]) Die ziemlich dunkelfarbige alkoholische Mutterlauge von auskrystallisirtem β-hyocholalsaurem Natrium zeigte ein etwas stärkeres Rotationsvermögen, oder $(\alpha)_D = +9{,}7°$.

Prismen bestand. Dieses Präparat wurde bei 100° getrocknet und dann analysirt:

0,2980 gr. gaben 0,0511 gr. Na_2SO_4, entsprechend 5,55% Na.
Die Formel $C_{25}H_{39}NaO_4$ fordert 5,40% Na.

Bariumsalz, bereitet durch Lösung des mittelst Chlorbarium in der Lösung des Natriumsalzes hervorgerufenen Niederschlages in Alkohol, Concentrirung der Lösung (wobei nicht eher Salz ausschied, als bis die Lösung Syrupsconsistenz erhalten hatte), Fällung mit Wasser und Lösung des Niederschlages in kochendem Wasser, wo dann das Salz bei Abkühlung zum Theil in der Form von krystalloidischen Häutchen ausschied, die bei 100° getrocknet und analysirt wurden:

0,5496 gr. gaben 0,1111 gr. $BaCO_3$ oder 14,06% Ba.

Aus der Wasserlösung mittelst Eindampfen erhaltenes Salz:

0,1589 gr. gaben 0,0328 gr. $BaCO_3$ oder 14,35% Ba.
Strecker fand[1]) im Bariumsalz 14,24% Ba.
Die Formel $C_{25}H_{39}baO_4$ fordert 14,25% Ba.

Als dieses Bariumsalz auf circa 220° erhitzt wurde, begann es zu schmelzen, und es sinterte zu einer goldgelben, stark elektrischen Masse zusammen. Hierbei verloren 0,2592 gr. 0,0044 gr. oder 1,70% an Gewicht. Strecker fand bei ähnlichen Versuchen einen Gewichtsverlust von 1,4—1,8%. Die ebengenannte Formel fordert 1,87% H_2O.

Als das auf diese Weise erhaltene wasserfreie Salz der Elementaranalyse unterworfen wurde, gaben

0,1479 gr. derselben 0,3425 gr. CO_2 und 0,1200 gr. H_2O.

In Procenten:

		Berechnet:	Gefunden:	Strecker:
C_{25}	300	63,62	63,16	63,1
H_{39}	39	8,27	9,01	8,5
ba	68,5	14,53	—	14,24
O_4	64	13,58	—	—
	471,5	100,00		

Das Silbersalz wurde dargestellt durch Fällung einer siedenden Lösung von Natriumsalz mit Silbernitrat. Der voluminöse, weisse Niederschlag wurde auf einem Saugfiltrum mit Wasser gewaschen, im Wasserbad getrocknet, pulverisirt, im

1) Ann. d. Chemie, Bd. 70. S. 193.

Trockenschrank bei 85—90° zu constantem Gewicht getrocknet. Das auf diese Weise erhaltene, hell gelbbraune Pulver wurde analysirt:

0,4629 gr. wurden auf 120° erhitzt, wobei das Salz eine dunkelbraune Farbe annahm, aber kaum an Gewicht verlor. Bei Erhitzung auf 140—150° schmolz es, und es bildete dann nach Abkühlung eine schwarze, glänzende, harzartige Masse, die gleichwohl keine bedeutende Zersetzung erlitten zu haben schien. Der ganze Gewichtsverlust hierbei belief sich auf 0,0066 gr. oder 1,42%.

0,2514 gr. gaben nach Glühung 0,0503 gr. Ag oder 20,01%.

0,3250 gr. bei 140—150° getrockneten Salzes gaben 0,0655 gr. Ag = 20,15%.

0,4437 gr. bei 140—150° getrockneten Salzes gaben 0,0914 gr. Ag = 20,59%.

Die Formel $C_{25}H_{39}AgO_4 + 1^1/_2 H_2O$ fordert 5,02% H_2O[1]) und 20,07% Ag, die Formel $C_{25}H_{39}AgO_4 + H_2O$ 20,41% Ag. Das wasserfreie Salz soll 21,13% Ag enthalten.

α-Hyocholalsäure in freiem Zustand, nach Schmelzung und Pulverisirung im Exsiccator und nachher bei ungefähr 100° getrocknet:

0,3595 gr. gaben 0,9458 gr. CO_2 und 0,3304 gr. H_2O.

0,1670 gr. gaben 0,0003 gr. Asche = 0,18%.

0,4550 gr. verloren bei Erhitzung bei 170—180° zu constantem Gewicht 0,0155 gr. oder 3,41% an Gewicht.

0,3158 gr. solcher bei 170—180° getrockneten Säure gaben 0,8628 gr. CO_2 und 0,2835 gr. H_2O.

Werden die erhaltenen Zahlen für wasser- und aschenfreie Säure berechnet, so erhält man in Procenten:

		Berechnet:	Gefunden:		Strecker im Mittel[2]):
C_{25}	300	74,26	74,70	74,65	74,27
H_{40}	40	9,90	10,19	9,99	10,05
O_{14}	64	15,84	—	—	—
	404	100,00			

Nach dem etwas zu hohen Kohlenstoffgehalt zu urtheilen, scheint die Bildung von Anhydrid bei 170—180° begonnen zu haben.

---

[1]) $^1/_2 H_2O$ = 1,67%.

[2]) Die von Strecker analysirte Hyocholalsäure war bei 120° getrocknet worden. Ob sie dabei schmolz oder nicht, ist nicht erwähnt.

B. Für die β-Hyocholalsäure und deren Verbindungen.

Unter der Voraussetzung, dass die im Vorhergehenden für die β-Hyoglykocholsäure aufgestellte Formel richtig ist, muss die entsprechende Hyocholalsäure die Zusammensetzung $C_{24}H_{40}O_4$ haben.

Natriumsalz. A. Bereitet aus Bariumsalz durch Behandlung mit Soda, Eintrocknung, Extraction mit absolutem Alkohol, Fällung mit Aether, Trocknung bei 100°, Pulverisirung und dann Trocknung über Schwefelsäure:

0,4732 gr. gaben 1,1921 gr. CO_2 und 0,4002 gr. H_2O.

B. Aus einer Alkohollösung auskrystallisirtes Salz, getrocknet bei circa 100°:

0,4035 gr. gaben 0,0663 gr. Na_2SO_4.

0,3268 gr. gaben 0,8143 gr. CO und 0,2922 gr. H_2O.

0,5141 gr. verloren bei Erhitzung auf 160° nur 0,0008 gr., bei Fortsetzung der Erhitzung bis auf 220° noch 0,0192 gr. an Gewicht (= 3,89%). Hierbei hatte indessen die Zersetzung begonnen, denn das Salz hatte eine sehr dunkle Farbe angenommen und gab mit Wasser eine, obwohl klare, doch dunkle Lösung von einem etwas angebrannten Geruch und Geschmack.

Das Präparat B scheint der Formel $C_{24}H_{39}NaO_4 + \frac{1}{2}H_2O$ zu entsprechen, während A sich mehr der Zusammensetzung des wasserfreien Salzes nähert:

	Berechnet		Gefunden[1]):	
	für $C_{24}H_{39}NaO_4$:	für $C_{24}H_{39}NaO_4 + \frac{1}{2}H_2O$:	A.	B.
C	69,56	68,08	68,70	67,96
H	9,42	9,45	9,39	9,93
Na	5,55	5,44	—	5,32
O	15,47	17,03	—	—
		($\frac{1}{2}H_2O$ = 2,12)		

[1]) Krystallisirtes Natriumsalz von einer andern Bereitung gab nach Trocknung bei 110—115° bei der Analyse 65,08% C, 9,74% H und 5,67% Na. Bei Erhitzung auf 210—220° verlor das Salz 4,72% seines Gewichtes (beginnende Zersetzung). Die Zahlen entsprechen am nächsten der Formel $C_{24}H_{39}NaO_4 + 1\frac{1}{2}H_2O$, welche 65,31% C, 9,52% H, 5,21% Na fordert und wo 1 Mol. H_2O = 4,08%. Wahrscheinlich war jedoch das Salz, nach seinem hohen Na-Gehalt zu urtheilen, nicht ganz rein. Ein bei einer anderen Gelegenheit bereitetes Salz gab (getrocknet bei 100°) 66,57% C und 10,00% H, was wieder der Zusammensetzung $C_{24}H_{39}NaO_4 + H_2O$ entspricht, welche 66,67% C und 9,49% H fordert.

Bariumsalz, niedergeschlagen mit Chlorbarium, in Spiritus gelöst, ausgefällt mittelst Wasserzusatz, getrocknet bei 100°, pulverisirt und über Schwefelsäure getrocknet:

0,1974 gr. gaben 0,4426 gr. CO_2 und 0,1521 gr. H_2O.

0,2869 gr. verloren bei Erhitzung auf circa 185° 0,0032 gr. an Gewicht oder 1,11%. Nach dem Glühen und Behandlung mit Schwefelsäure wurden 0,0690 gr. $BaSO_4$ erhalten.

In Procenten:

		Berechnet für $C_{24}H_{39}baO_4 + \frac{1}{2}H_2O$:	Gefunden:
C_{24}	288	61,47	61,15
H_{40}	40	8,54	8,56
ba	68,5	14,62	14,12
$O_{4\frac{1}{2}}$	72	15,37	—
	468,5	100,00	
		($\frac{1}{2}H_2O$ = 1,92)	(1,11)

Das Silbersalz, bereitet auf dieselbe Weise wie das entsprechende Salz der α-Hyocholalsäure, verhielt sich vollständig gleichartig mit diesem (schmolz aber etwas leichter).

0,3929 gr., erhitzt bis auf circa 130°, geschmolzen, gaben 0,0812 gr. Ag = 20,67%.

0,5220 gr., getrocknet bei circa 150°, gaben 0,1088 gr. Ag = 20,84%.

0,5345 gr., getrocknet bei 130°, verloren bei Erhitzung auf 170—180° 0,0101 gr. oder 1,89% an Gewicht.

Nach Erhitzung auf 130° scheint das Salz also die Formel $C_{24}H_{39}AgO_4 + H_2O$ (welche 20,89% Ag fordert) zu haben und nach Erhitzung auf 170—180° die Hälfte seines Wassers zu verlieren ($\frac{1}{2}H_2O$ = 1,74%).

Die freie β-Hyocholalsäure. A. Mit Salzsäure ausgefällte Säure wurde in Alkohol gelöst, mit Wasser gefällt, wieder in Alkohol gelöst, eingetrocknet und auf circa 100° erhitzt, wobei sie schmolz, hierauf pulverisirt und über Schwefelsäure getrocknet:

0,2649 gr. gaben 0,7150 gr. CO_2 und 0,2531 gr. H_2O.

B. Aus Natriumsalz von einer anderen Bereitung ausgefällte, an der Luft getrocknete Säure:

0,2433 gr. gaben 0,6263 gr. CO_2 und 0,2335 gr. H_2O.

0,5871 gr. verloren bei Erhitzung auf circa 105° (wobei die Säure schmolz) 0,0179 gr. (= 3,05%) an Gewicht und gaben nach Glühung 0,0014 gr. (= 0,26%) Asche.

C. Aus krystallisirtem Natriumsalz ausgefällte, an der Luft getrocknete Säure:

0,2227 gr. gaben 0,5661 gr. CO_2 und 0,2097 gr. H_2O.
0,3060 gr. verloren bei 100—110° 0,0123 gr. (= 4,02 %) an Gewicht.
0,2670 gr. gaben 0,0004 gr. (= 0,15 %) Asche.

In Procenten:

		Berechnet		Gefunden[1]:		
		für $C_{24}H_{40}O_4$:	für $C_{24}H_{40}O_4 + {}^1/_4 H_2O$:	A.	B.	C.
C_{24}	288	73,47	72,63	73,61	72,59	72,35
H_{40}	40	10,20	10,21	10,61	10,67	10,45
O_4	64	16,33	17,16	—	—	—
	392	100,00	100,00			

Es sieht mithin aus, als ob diese Säure, gleich der gewöhnlichen Cholalsäure, durch Erhitzung bis auf etwas über 100° nur mit Schwierigkeit wasserfrei zu erhalten ist.

Die Ergebnisse, zu denen ich durch meine Untersuchungen der Säuren der Schweinegalle, wie ich anzunehmen wage, gelangt bin, sind also in grösster Kürze folgende:

1. Die Schweinegalle enthält als hauptsächliche Bestandtheile Natriumsalze von zwei verschiedenen Glykocholsäuren, welche bei der Zersetzung Glykocholl und je eine Hyocholalsäure bilden. Ausserdem enthält sie in geringer Menge Natriumsalze von einer, möglicherweise sogar von zwei Taurocholsäuren.

2. Die beiden Hyoglykocholsäuren unterscheiden sich vornehmlichst durch die verschiedene Löslichkeit ihrer (Natrium-) Salze in Salzlösungen. Die als für die Schweinegalle charakteristisch angesehene Fällbarkeit derselben mittelst gesättigter Lösungen von neutralen Salzen ist nur in geringem Grade bei den β-hyoglykocholsauren Salzen vorhanden, welche doch den bedeutendsten Bestandtheil der Galle bilden.

3. Die beiden Hyocholalsäuren zeigen unter sich Verschiedenheiten, die vollständig analog mit denen sind, durch

---

1) Nach Abzug für Feuchtigkeit und Asche.

welche die entsprechenden «gepaarten» Gallensäuren sich von einander unterscheiden.

Der Nachweis von zwei verschiedenen Gallensäuren in der Schweinegalle steht mit den Resultaten in naher Uebereinstimmung, welche in dieser Hinsicht die neuesten Forschungen bei der Untersuchung der Ochsen- und der Menschengalle ergeben haben.

Was hinwiederum die Zusammensetzung dieser Säuren der Schweinegalle anbetrifft, so habe ich keine Veranlassung gefunden, für die α-Hyoglykocholsäure und die entsprechende Cholalsäure die Strecker'schen Formeln $C_{27}H_{43}NO_5$ und $C_{25}H_{40}O_4$ zu ändern. Für die β-Säuren schienen mir die Formeln $C_{26}H_{43}NO_5$ und $C_{24}H_{40}O_4$ den analytischen Ergebnissen am besten entsprechend zu sein. Ich gestehe aber gern zu, dass diese Formeln durch die vorliegenden Untersuchungen nicht als hinreichend bewiesen betrachtet werden können. Ein Atom Kohlenstoff oder ein paar Atome Wasserstoff mehr oder weniger verursachen da, wo es sich um Stoffe mit einem so hohen Moleculargewicht wie des hier fraglichen handelt, keine besonders hohe Differenzen in der procentischen Zusammensetzung. Die von mir ausgeführten Analysen zeigen, sei es unter sich oder mit den berechneten Werthen, oft keine besonders gute Uebereinstimmung, und dieses beruht, wie ich glaube, hauptsächlich auf der Schwierigkeit, diese amorphen, hygroskopischen und bei stärkerer Erhitzung sich leicht zersetzenden Stoffe in einem für die Analyse geeigneten Zustand zu erhalten. Bevor von den Hyocholalsäuren einige gut krystallisirte Verbindungen dargestellt worden sind, dürften sich ihre Formeln nicht mit Sicherheit bestimmen lassen. Dieses dürfte übrigens, wie der langwierige, noch kaum beendigte Streit über die Zusammensetzung der gewöhnlichen Cholalsäure deutlich zeigt, auch dann noch schwer genug sein. Und doch gilt es dort einen Stoff, der hinsichtlich des Vermögens schöne und gut entwickelte Krystalle zu geben kaum von irgend einem andern zu dem Gebiete der physiologischen Chemie gehörenden übertroffen wird!

Was schliesslich die Zusammensetzung der Hyotaurocholsäure betrifft, so gründet sich die Aufstellung der Formel $C_{26}H_{45}NSO_6$ für dieselbe ausschliesslich auf die Annahme, dass die schwefelhaltige Säure, welche der β-Hyoglykocholsäure so beharrlich beigemengt ist, zu dieser Säure in demselben Verhältniss stehen muss, wie in der Ochsengalle die gewöhnliche Taurocholsäure zur Glykocholsäure. Wenn die Spuren von schwefelhaltiger Säure, welche der α-Hyoglykocholsäure beigemengt sind, eine besondere α-Hyotaurocholsäure bilden, so muss diese natürlicherweise in Analogie hiermit die Zusammensetzung $C_{27}H_{45}NSO_6$ haben. Hier aber befinden wir uns bis auf Weiteres vollständig auf dem Gebiete der Vermuthungen.

Stockholm, Chemisches Laboratorium des Carolinischen Instituts.

Ueber Furfurolreactionen.

Von

Dr. Ladislaus v. Udránszky.

III. Mittheilung.

(Der Redaction zugegangen am 5. September 1888.)

VI. Ueber die Verharzung des käuflichen Amylalkohols.

1. Ursache der Verharzung.

In einer früheren Arbeit[1]) habe ich bereits darauf hingewiesen, dass der käufliche Amylalkohol zu manchen chemischen Arbeiten — speciell zur Abtrennung von Farbstoffen aus sauren Flüssigkeiten — nur unter Berücksichtigung gewisser Cautelen verwendet werden darf, da er, besonders wenn die Einwirkung irgend einer stärkeren Säure mitspielt, sich zum Theil zersetzt und schliesslich einer partiellen Verharzung unterliegt. Es gelang damals durch verschiedene Experimente festzustellen, dass der gewöhnliche Amylalkohol bei gewissen chemischen Proceduren schon an und für sich gefärbte Zersetzungsproducte liefert. Diese können natürlicherweise die Resultate der Untersuchung stören, indem sie der Reinheit der mit Hülfe des Amylalkohols dargestellten oder extrahirten Substanzen Schaden anthun.

Der Gährungsamylalkohol, so wie er den käuflichen Amylalkohol darstellt, besteht — wie es ja allgemein bekannt ist — aus einem nicht immer constant gleichmässig zusammengesetzten Gemenge dreier isomerer Alkohole. Er enthält ausser diesen drei wesentlichen Bestandtheilen auch noch andere Sub-

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. XI, S. 545 u. ff.

stanzen, welche aber nur in sehr geringer Menge in ihm vorkommen und als Verunreinigungen angesehen werden müssen. Einige dieser beigemengten Substanzen entstehen schon bei der alkoholischen Gährung, etliche andere werden aber wahrscheinlich erst beim Abdestilliren der ausgegohrenen Maischflüssigkeiten gebildet. Zu diesen Verunreinigungen des käuflichen Amylalkohols gehört auch das Furfurol, von welchem Förster[1]) zuerst ermittelt hat, dass es einen regelmässigen Bestandtheil des Fuselöls bildet. Das Furfurol kann im Amylalkohol sehr leicht nachgewiesen werden, so z. B. mit Anilin und Salzsäure. Der Nachweis gelingt aber noch viel leichter und sicherer, wenn man sich der — im I. Capitel dieser Mittheilungen[2]) besprochenen — α-Naphtholreaction bedient. Man kann mit Hülfe dieser Probe selbst in sehr kleinen Mengen der im Handel vorkommenden feinsten Amylalkohole[3]) die Gegenwart von Furfurol mit grosser Schärfe und Sicherheit erkennen.

Das Furfurol geht mit den verschiedensten Substanzen Farbenreactionen ein, und gibt selbst mit dem Amylalkohol bei Gegenwart von starker Schwefelsäure eine schön rothe, der Furfurolreaction der Gallensäuren nahestehende Färbung, wie das Mylius[4]) schon angeführt hat. Es erschien daher wahrscheinlich, dass dem im Amylalkohol stets enthaltenen Furfurol bei der Verfärbung und Verharzung des käuflichen Amylalkohols eine gewisse Rolle zukommt.

2. Darstellung des furfurolfreien Amylalkohols.

Die Entscheidung der Frage — ob das Furfurol auf die Verfärbung und Verharzung des käuflichen Amylalkohols thatsächlich einen Einfluss hat, oder nicht — war begreiflicherweise an die Darstellung und Untersuchung eines furfurolfreien Amylalkohols gebunden. Die Gewinnung eines solchen

---

1) Berichte d. deutsch. chem. Ges., Jahrg. XV, S. 230 u. 324.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XII, Heft No. 4.

3) Der zu den Versuchen benützte Amylalkohol wurde von der Firma Kahlbaum in Berlin bezogen.

4) Diese Zeitschrift, Bd. XI, S. 495.

musste daher allererst angestrebt werden. Es wurden zunächst Vesuche darüber angestellt, wie weit man den käuflichen Amylalkohol durch fractionirte Destillation reinigen kann. Der Amylalkohol siedet bekanntlich bei **131—132°** C.; um ihn aber vollkommen abdestilliren zu können, muss man schliesslich die Temperatur noch weiter steigern. Je reiner der Amylalkohol, um so kleiner ist dann natürlicherweise der hochsiedende Theil desselben, welcher aus dem Furfurol (Siedepunkt: **162°** C.) und neben diesem noch aus einigen anderen Substanzen, so z. B. etlichen höheren Homologen des Amylalkohols etc. besteht. Wenn man also den käuflichen Amylalkohol bei einer Temperatur von **132°** C. der Rectification unterwirft, so gelingt es zwar, mit den ersten Fractionen des Destillates einen reineren, d. h. furfurolärmeren Amylalkohol zu gewinnen, doch geht diese Rectification über eine gewisse Grenze nicht hinaus. Es bleiben schliesslich doch noch geringe Mengen Furfurol im Amylalkohol zurück, und diese können selbst durch wiederholtes Fractioniren nicht mehr zurückgehalten werden. Ist diese gewisse Grenze einmal erreicht, dann kann man in den einzelnen Fractionen des Destillates nicht mehr — soweit es sich wenigstens mit Hülfe der α-Naphtholreaction beurtheilen liess — einen wesentlichen Unterschied in dem Gehalte an Furfurol erzielen.

Weitere Versuche der vollständigen Abtrennung des Furfurols, d. h. der Gewinnung eines furfurolfreien Amylalkohols — so u. A. mit Hülfe von Thierkohle —, führten ebenso wenig zu einem irgend wie befriedigenden Resultate. Es wurde deshalb in der Folge die Zerstörung des Furfurols im Amylalkohol, resp. dessen Ueberführung in nicht flüchtige Verbindungen versucht. Zu diesem Zwecke wurde der Amylalkohol also mit frisch gefälltem Silberoxyd versetzt, dann im Dampfbad mehrere Stunden lang erhitzt und schliesslich mit einem Dampfstrom überdestillirt. Trotzdem aber relativ grosse Mengen von Silberoxyd verbraucht wurden und sich ein reichlicher Silberspiegel im Kochkolben ausgebildet hat, war es doch, selbst bei öfterer Wiederholung der Procedur, nicht möglich, auf diese Weise einen furfurolfreien Amyl-

alkohol darzustellen. Ebenso resultatlos blieben die Experimente mit Natriumbisulfit und mit Kaliumpermanganat. Es soll noch erwähnt werden, dass bei Anwendung dieser letzteren Substanz beträchtliche Verluste an Amylalkohol entstehen. Das übermangansaure Kalium scheint auf den Amylalkohol selbst leichter einzuwirken, wie auf das darin enthaltene Furfurol.

Versuche, bei welchen concentrirte Salzsäure zur Zerstörung des Furfurols verwendet wurde, haben den erwünschten Erfolg ebenfalls nicht herbeigeführt. Es gelang aber schliesslich, einen so gut wie furfurolfreien Amylalkohol zu gewinnen, indem concentrirte Schwefelsäure zur Reaction benützt wurde. Der Amylalkohol wurde also mit dem halben Volum concentrirter Schwefelsäure vermischt, und am Dampfbad 8 Stunden lang erhitzt. Die Flüssigkeit wurde sehr bald gelb, braun, schliesslich schwarzbraun. Der Amylalkohol wurde nach dem Erkalten von der Säure möglichst getrennt, mit Calciumcarbonat geschüttelt, von den Kalksalzen abfiltrirt, in einem geräumigen Kolben auf destillirtes Wasser geschichtet, und dann mit dem Dampfstrom überdestillirt. Das im Kolben zurückgehaltene Wasser färbte sich schön goldgelb; nach vollständigem Verjagen des Amylalkohols fielen ausserdem schwarze, schmierige Massen aus. Der Amylalkohol in der Vorlage wurde von dem condensirten Wasser abgehoben und der geschilderten Procedur wieder unterworfen. Das 4—5-malige Wiederholen des Verfahrens ergab schliesslich einen Amylalkohol, welcher mit α-Naphthol und concentrirter Schwefelsäure nur mehr eine sehr undeutliche Furfurolreaction zeigte.

Die Gewinnung eines vollkommen furfurolfreien Amylalkohols wurde aber erst durch die Verseifung von amylschwefelsaurem Kalium erreicht. Das im Handel vorkommende amylschwefelsaure Salz konnte zu diesem Zwecke nicht unmittelbar verwandt werden. Es ist nämlich durch Furfurol ebenfalls verunreinigt. Zur Reindarstellung des Salzes wurde dasselbe in wenig warmem Alkohol gelöst, und die alkoholische Lösung mit einem grossen Ueberschuss von

Aether[1]) versetzt. Es fiel dann das Salz in Form von krystallinischen Blättchen aus. Das amylschwefelsaure Kalium konnte auf diese Weise durch 3—4 mal wiederholtes Umkrystallisiren schliesslich in Gestalt von schneeweissen, fettglänzenden Blättchen erhalten werden, welche in Wasser gelöst und mit der α-Naphtholprobe geprüft, nur noch eine ganz schwache Furfurolreaction zeigten. Dass aus dem amylschwefelsauren Salz durch dieses Reinigungsverfahren thatsächlich relativ bedeutende Mengen von Furfurol abgetrennt worden sind, das konnte sehr leicht bewiesen werden, indem die alkoholisch-ätherische, von dem ausgeschiedenen Salz abgegossene Lösung bei gelinder Temperatur verdunstet wurde. Der Rückstand zeigte eine sehr intensive Furfurolreaction.

Die Verseifung des so gereinigten amylschwefelsauren Kaliums mit Hülfe von Natronlauge hat keine befriedigende Ausbeute gegeben. Es wurde daher das Salz alsdann mit 10procentiger Schwefelsäure übergossen, und am Rückflusskühler im Dampfbad 5 Stunden lang erhitzt. Die Ausbeute war nun beinahe ganz quantitativ. Diese Methode des Verseifens hatte aber auch noch einen weiteren Vortheil. Durch die andauernde Einwirkung der starken Mineralsäure bei höherer Temperatur werden nämlich auch die letzten, dem Salze noch beigemengten Spuren von Furfurol entzogen, indem sie zur Bildung von gefärbten Verbindungen verbraucht werden, von welchen der Amylalkohol dann durch Destillation getrennt werden kann. Die gelbbraune Färbung des bei der Verseifung enstandenen Amylalkohols sprach schon für die Richtigkeit dieser Annahme. Als dann dieser abgetrennt, mit Calciumcarbonat geschüttelt, von den Kalksalzen abfiltrirt und mit Wasserdämpfen überdestillirt wurde, konnte andererseits im Destillate kein Furfurol mehr nachgewiesen werden.

Auf diese Weise gelang es also, einen vollkommen furfurolfreien Amylalkohol darzustellen.

---

[1]) Der zu diesem Verfahren benützte Alkohol und Aether wurde durch Behandlung mit Thierkohle und wiederholtes Abdestilliren gereinigt.

3. Eigenschaften des furfurolfreien Amylalkohols.

Während der käufliche Amylalkohol mit Wasser geschüttelt eine starke Trübung zeigt, welche erst allmälig schwindet, erleidet der gereinigte Amylalkohol nur eine sehr vorübergehende Opalescenz beim Schütteln mit Wasser, und trennt sich schnell von diesem. Der widrige, die Schleimhäute der oberen Respirationswege intensiv reizende Geruch des käuflichen Amylalkohols ist bei dem gereinigten in viel abgeschwächterem Maasse vorhanden.

Der Unterschied in den Eigenschaften des käuflichen und des furfurolfreien Amylalkohols zeigt sich aber ganz besonders deutlich bei ihrem Verhalten gegen Alkalien und Säuren. Wenn man den gewöhnlichen Amylalkohol mit kalter concentrirter oder mit aufgekochter verdünnter Natronlauge schüttelt, so färbt sich das Gemisch alsbald citronen- bis schwach orangegelb, und es geht nach kurzem Stehen ein beträchtlicher Theil des gebildeten Farbstoffes in den Amylalkohol über. Dementgegen kann man den furfurolfreien Amylalkohol mit concentrirter Natronlauge anhaltend kochen, ohne dass sich die geringste Spur einer Verfärbung zeigte. Während der gewöhnliche Amylalkohol, mit **5—10**% HCl versetzt und am Sonnenlicht stehen gelassen, sich allmälig gelb, nach einigen Tagen aber braun färbt, und beim Erhitzen in sehr kurzer Zeit diese Dunkelfärbung erfährt, kann man den gereinigten furfurolfreien Amylalkohol selbst mit **25—30** Vol.-% concentrirter Salzsäure Tage lang stehen lassen, ohne dass sich jedwede Spur einer Verfärbung bemerken liesse. Kocht man den furfurolfreien Amylalkohol mehrere Stunden hindurch mit der genannten Quantität Salzsäure, so zeigt er auch nur eine ganz schwach gelbe Färbung.

Wenn man in einem Reagensglas unter den käuflichen Amylalkohol etwa das halbe Volum concentr. Schwefelsäure schichtet, so entsteht an der Berührungsfläche der Flüssigkeiten ein ziegelrother, sehr bald in Roth- und Violettbraun übergehender Farbenring. Vermischt man die Flüssigkeiten, so entsteht eine intensiv ziegelrothe Färbung, welche nach

kurzer Zeit einer bräunlichvioletten Färbung Platz gibt. Die braune Farbe des Gemisches nimmt bei längerem Stehenlassen desselben an Intensität noch zu. Der furfurolfreie Amylalkohol zeigt hingegen, über conc. Schwefelsäure geschichtet, gar keine Farbenerscheinungen. Vermischt man ihn mit dem gleichen Volum concentrirter Schwefelsäure, so resultirt nur eine schwach bernsteingelbe Färbung, welche selbst nach Tage langem Stehen nicht intensiver wird. Ebenso bekommt diese Gelbfärbung nur einen ganz schwachen Stich in's Rothe, wenn man ein Gemisch von 2 Theilen furfurolfreien Amylalkohols und 1 Theil concentrirter Schwefelsäure am Dampfbad erhitzt. Wird dagegen der käufliche Amylalkohol einer solchen Procedur unterworfen, so färbt er sich alsbald roth. — violett, — schliesslich schwarzbraun.

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass es gelungen ist, einen Amylalkohol darzustellen, welcher die unangenehmen Eigenschaften nicht mehr zeigt, die sonst den käuflichen Amylalkohol zur Extraction von Farbstoffen aus sauren Lösungen unverwendbar machen. Es ist nicht zu bezweifeln, dass durch das beschriebene Reinigungsverfahren nicht nur das Furfurol, sondern auch noch andere Beimengungen entfernt worden sind, somit ein absolut reiner Amylalkohol vorlag. Immerhin muss das Furfurol als jene Verunreinigung des käuflichen Amylalkohols angesehen werden, welche für die Verfärbung und Verharzung hauptsächlich, ja vielleicht allein verantwortlich gemacht werden darf. Der Beweis hierfür konnte sehr leicht geliefert werden. Als nämlich der gereinigte, furfurolfreie Amylalkohol mit 0,15 % Furfurol versetzt wurde, zeigte er dieselben Farbenerscheinungen bei der Behandlung mit Natronlauge, Salzsäure und Schwefelsäure, wie das von dem käuflichen Amylalkohol beschrieben worden war.

Giesst man zu einer Lösung von einigen Tropfen furfurolfreien Amylalkohols und 2 Tropfen 0,5procentigen Furfurolwassers in 1 cbcm. reinstem Aethylalkohol, etwa 2 cbcm. concentrirte Schwefelsäure, so entsteht an der Berührungsfläche der Flüssigkeiten ein lebhaft indigorother Farbenring, welcher bei passender Ausführung des Experimentes recht

lange Zeit gleich bleibt, und erst allmälig violettfarben wird. Neben diesem rothen, resp. blauen Farbenton ist auch noch ein brauner bei der Reaction zu bemerken; er ist immerhin sehr schwach, und zwar um so schwächer, je vorsichtiger die Reaction ausgeführt wird. Analysirt man diese Furfurolreaction des Amylalkohols mit dem Spectroscop, so findet man zur Zeit der Rothfärbung eine kräftige, etwas diffus begrenzte Absorption, welche zwischen **E** und **b** beginnt und bis **F** oder noch etwas darüber hinaus reicht. Der Streifen wird schmäler und schärfer, sobald die Farbe der Flüssigkeit in's Violette überzugehen beginnt, und er rückt zugleich in vielen Fällen parallel mit der Intensitätszunahme der Violettfärbung gegen den linken Rand des Spectrums zu. Diese Wanderung des Absorptionsstreifens erfolgt sehr allmälig und ist nicht bei jeder Probe zu beobachten. Bei einigen Versuchen dauerte es mehrere Tage, bis die Verschiebung des Streifens bemerklich wurde[1]).

Ganz dieselben Farben- und Spectralerscheinungen sind zu beobachten, wenn man zu den Versuchen den käuflichen Amylalkohol benützt, und zwar ohne dass man auch noch Furfurolwasser zuzusetzen hätte. Das im gewöhnlichen Amylalkohol stets enthaltene Furfurol genügt schon für sich allein zur Reaction. Die Farben sind bei dieser Probe nicht so schön, wie bei der Furfurolreaction des gereinigten Amylalkohols. Es kann besonders die braune Nebenfärbung recht bedeutend werden, was wahrscheinlich auf die leichte Zersetzlichkeit noch anderer Verunreinigungen des käuflichen Amylalkohols zurückgeführt werden darf. Die Violettfärbung und die Spectralerscheinungen treten aber auch hier mit derselben Präcision und Regelmässigkeit ein, wie bei den Versuchen mit reinem Amylalkohol und Furfurolwasser. Nimmt

---

[1]) Es sei hier zugleich noch eine weitere Eigenthümlichkeit der Furfurolreaction des Amylalkohols erwähnt, nämlich ihre grosse Beständigkeit. Während die meisten Furfurolreactionen in wenigen Stunden oder Tagen ihre Farbe verlieren, oder eine ganz andere, nicht mehr charakteristische Färbung bekommen, sind die Violettfärbung und die beschriebenen Spectralerscheinungen bei den Furfurolreactionen des Amylalkohols selbst nach Wochen noch ganz rein und scharf zu erkennen.

man grössere Mengen des Amylalkohols zur Reaction, so wird die Färbung zu dunkel, um spectroscopisch analysirt werden zu können. Eben darum wurden zu den Versuchen immer nur kleine Mengen verwendet und zugleich die Verdünnung mit reinstem Aethylalkohol zur Hülfe genommen.

Die angeführten Ergebnisse der Spectraluntersuchung geben ebenfalls einen weiteren Beweis dafür, dass die Verfärbung des gewöhnlichen Amylalkohols als eine Furfurolreaction aufzufassen ist. Dass der käufliche Amylalkohol, mit Salzsäure versetzt und dem zerstreuten Sonnenlichte ausgestellt — sobald die Verfärbung eingetreten —, einen Absorptionsstreifen zeigt, welcher dem des Hydrobilirubins nahe liegt, darauf hat zuerst F. Hoppe-Seyler aufmerksam gemacht[1]).

4. Quantitative Bestimmungen über die Verharzung des käuflichen Amylalkohols.

Die auf seiner Verunreinigung durch Furfurol beruhende unangenehme Eigenschaft des käuflichen Amylalkohols — dass er sich nämlich unter gewissen Umständen verfärbt — kann demnach bei manchen chemischen Arbeiten zur Vortäuschung spectroscopisch charakterisirter Farbstoffe führen. Da der Amylalkohol vielfach zur Extraction von solchen Substanzen — und zwar oft von sehr geringen Mengen — gebraucht wird, schien es andererseits wünschenswerth, zu bestimmen, inwieweit der käufliche Amylalkohol durch Hinterlassung von Zersetzungsproducten die Resultate der Untersuchung stören kann.

Ein im Laufe der weiter oben citirten Arbeit ausgeführter Versuch[2]) zeigte schon, dass bei Benützung des käuflichen Amylalkohols zur Abtrennung gewisser Substanzen aus sauren und zugleich erwärmten Flüssigkeiten beträchtliche Mengen von Verharzungsproducten entstehen können, welche dann natürlicherweise dem eigentlichen Untersuchungsmaterial anhaften. Bei jenen Versuchen kam es aber nicht darauf an, die Quantität des zur Operation verwendeten Amylalkohols

---

[1]) Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch., Jahrg. XVIII, S. 602. Vergl. auch meine Untersuchungen, diese Zeitschrift, Bd. XI, S. 546.

[2]) Diese Zeitschrift, Bd. XI, S. 546 u. 549.

in Betracht zu nehmen. Es mussten daher neue Experimente ausgeführt werden, damit Einsicht darüber gewonnen werde, wie bedeutend die relative Menge der Verharzungsproducte sein kann, welche der käufliche Amylalkohol liefert.

150 gr. käuflichen Amylalkohols wurden mit 150 cbcm. 10procentiger Salzsäure versetzt und in einem mit Steigrohr versehenen Kolben am Dampfbad bis zum Eintritt der Braunfärbung erhitzt. Der Amylalkohol wurde dann von der Säure möglichst getrennt, mit Calciumcarbonat neutralisirt, abfiltrirt und im Dampfstrom überdestillirt. Es blieb im Kolben eine goldgelbe, wässerige Lösung zurück, in welcher schwarze, harzige Schüppchen schwammen. Diese wogen nach dem Trocknen im Dampfschrank: 0,0425 gr. Es wurden also bei dieser Behandlung des käuflichen Amylalkohols 0,028 % Verharzungsproducte daraus gewonnen.

Der furfurolfreie Amylalkohol zeigte bei derselben Behandlung — selbst nach Stunden langem Kochen — keine Verfärbung und hinterliess keinen Rückstand beim Abdestilliren. Man kann aber aus ihm Verharzungsproducte sehr leicht gewinnen, wenn man ihn mit Furfurol versetzt. Als nämlich 50 gr. furfurolfreien Amylalkohols mit 50 cbcm. 10procentiger Salzsäure und 0,3 gr. Furfurol am Dampfbad bis zum Eintritt der Braunfärbung gekocht, nachher mit kohlensaurem Calcium behandelt und mit Wasserdämpfen überdestillirt wurden, blieben 0,0275 gr., also 0,055 % verharzte Massen zurück. Der von diesen abdestillirte Amylalkohol zeigte eine kräftige Furfurolreaction; es war also nur ein Theil des zugesetzten Furfurols zur Bildung der Verharzungsproducte verwendet worden. Hierauf deutete übrigens auch schon die, zur Quantität des benützten Furfurols relativ geringe Ausbeute an Verharzungsproducten. Diese Erscheinung stimmt aber auch mit der schon angeführten Beobachtung überein, dass es nämlich mit Hülfe von Salzsäure nicht gelingt, den käuflichen Amylalkohol von dem beigemengten Furfurol vollkommen zu befreien.

Die Menge der aus dem käuflichen Amylalkohol entstehenden Verharzungsproducte wird noch grösser, wenn man

den mit Säuren in Berührung gewesenen Amylalkohol ohne vorherige Neutralisation abdestillirt, und die Destillation nicht mit Wasserdämpfen, sondern bei der Siedetemperatur des Amylalkohols ausführt. Der Amylalkohol nimmt nämlich recht grosse Mengen von der Säure in sich auf, und diese wirken dann bei der höheren Temperatur noch viel kräftiger auf ihn ein.

Als 38 gr. käuflichen Amylalkohols mit einer Salzsäure von 1,07 spec. Gew. geschüttelt, von dieser abgehoben und dann ohne Weiteres aus einer Retorte im Oelbade abdestillirt wurden, blieben 0,028 gr., also 0,074 % Verharzungsproducte zurück.

5. Der furfurolfreie Amylalkohol als Extractionsmittel.

a) Für die Abtrennung von Farbstoffen.

Aus den geschilderten Versuchen geht es hervor, dass der käufliche Amylalkohol recht unverlässlich ist bei solchen chemischen Arbeiten, wo höhere Temperatur und Säuren auf ihn einwirken. Er kann aber auch unter der Einwirkung von Alkalien Farbstoffe bilden. Es ist daher ohne Weiteres einleuchtend, dass mit dem käuflichen Amylalkohol extrahirte Farbstoffe bezüglich ihrer Reinheit einer besonderen Prüfung bedürfen. Bei Verwendung des gereinigten, furfurolfreien Amylalkohols ist man der Gefahr einer unerwünschten Verfärbung oder Verharzung nicht mehr ausgesetzt. Ein solcher kann demnach diesbezüglich ohne jedwedes Bedenken zu Zwecken von chemischen Operationen benützt werden.

b) Für die Extraction geringer Mengen von Substanzen, so z. B. bei forensischen Untersuchungen auf Alkaloide.

Der Amylalkohol ist bekanntlich seit Erdmann's und v. Uslar's[1]) Untersuchungen ein werthvolles Hülfsmittel bei der forensischen Untersuchung auf Alkaloide geworden. Da es sich bei diesen Untersuchungen meistens um sehr kleine Mengen von Substanzen handelt, deren Gewicht leicht geringer sein kann,

[1]) Vgl. Fr. Jul. Otto's « Anleitung zur Ausmittelung der Gifte etc. ». VI. Auflage, Braunschweig 1884, S. 115 u. ff.

als dasjenige der Verharzungsproducte, welche aus dem bisher sogenannten «reinen» Amylalkohol gebildet werden können, schien es geboten, durch besondere Experimente festzustellen, inwieweit der Furfurolgehalt des käuflichen Amylalkohols eine derartige Verwendung desselben stören kann. Zu diesem Zwecke wurden einige Versuche der Extraction von bekannten Mengen Morphins aus Fleischtheilen mit Hülfe des sogenannten «reinen» und des von mir dargestellten furfurolfreien Amylalkohols vorgenommen, — bei welchen Experimenten ich der freundlichen Mitwirkung des Herrn Apothekers M. Hoffmann mich zu erfreuen hatte.

1 ctgr. Morphium hydrochloricum wurde in 10 cbcm. Fleischbrei verrührt; das Gemenge dann in zwei gleiche Theile geschieden. Bei der weiteren Bearbeitung[1]) kam für den einen Theil immer der gereinigte, furfurolfreie, für den anderen dagegen der käufliche Amylalkohol zur Verwendung. Es wurde dafür Sorge getragen, dass die Quantitäten der angewendeten Reagentien bei den beiden Portionen die gleichen waren. In den Rückständen der ersten, aus der ammoniakalischen Flüssigkeit mit Amylalkohol gewonnenen Auszüge war schon ein deutlicher Unterschied zu bemerken. Der furfurolfreie Amylalkohol hat eine weisse, krystallinische Abscheidung hinterlassen; nach dem Verdunsten des mit käuflichem Amylalkohol gewonnenen Auszuges ist dagegen eine bräunliche, schmierige Masse zurückgeblieben, welche gar keine krystallinische Structur erkennen liess. Der Unterschied nahm nur zu, nachdem die Rückstände in warmem, schwefelsäurehaltigem Wasser gelöst wurden, dieses mehrere mal mit Amylalkohol ausgeschüttelt, nachher mit Ammoniak alkalisch gemacht und dann das Morphin daraus wieder mit Amylalkohol extrahirt und der Amylalkohol verdunstet wurde. Mit den Rückständen wurden dann einige Morphinreactionen ausgeführt. Wesentliche Differenzen in dem Ausfall der Reactionen waren nicht vorhanden. Nur bei der Husemann'schen Probe war die Rothfärbung einigermassen beeinträchtigt durch die braune Nebenfärbung, welche bei der Einwirkung der Schwefel-

---

[1]) Vgl. hierüber: l. c. des Otto'schen Handbuches.

säure auf den Rückstand des mit käuflichem Amylalkoho gewonnenen Auszuges, durch weitergehende Zersetzungen der aus dem Amylalkohol stammenden harzigen Massen bedingt wurden. Bei Anstellung der Pellagri'schen Reaction war ausserdem die Grünfärbung in der mit gereinigtem, furfurolfreiem Amylalkohol behandelten Portion viel schöner eingetreten, wie in der anderen.

Dass aus dem gereinigten, furfurolfreien Amylalkohol darin gelöste Substanzen schöner auskrystallisiren, wie aus dem käuflichen, — dafür kann noch ein Beispiel angeführt werden. 10 cbcm. etwas angefaulten Fleischbreies wurden nämlich derselben Behandlung unterworfen, wie bei dem vorigen Versuch — aber ohne dass auch Morphin zugesetzt worden wäre —, um zu sehen, ob der Rückstand des mit käuflichem Amylalkohol gewonnenen Auszuges nicht vielleicht irgendwelche Morphinreaction geben und somit die Gegenwart von Morphin vortäuschen könnte. Dies war nicht der Fall. Die beiden Rückstände waren aber auch hier sehr verschieden. Der mit käuflichem Amylalkohol dargestellte war vollkommen amorph und schmierig. Aus der Portion dagegen, welche mit gereinigtem, furfurolfreiem Amylalkohol hehandelt wurde, schieden sich schöne, wasserhelle Prismen aus, die die Eigenschaften und Reactionen des Kreatinins zeigten.

Im Hinblick auf die hier angeführten Versuche muss es als wünschenswerth bezeichnet werden, dass der furfurolfreie Amylalkohol bald ein Handelsproduct werde, da die Darstellung kleiner Quantitäten desselben in Laboratorien sehr mühsam und zeitraubend ist.

VII. Ueber den Nachweis von Fuselöl in Spirituosen.

Angesichts der schönen, nicht vergänglichen Farbe und des speciellen Spectralverhaltens, welche die Furfurolreaction des Amylalkohols charakterisiren, war es naheliegend, zu versuchen, ob man diese Probe nicht vielleicht zur Erkennung des Amylalkohols, resp. zum Nachweis des Fuselöls in Spirituosen verwerthen könnte.

Das Fuselöl enthält bekanntlich ausser dem Amylakohol noch verschiedene andere Substanzen, so z. B. mehrere Aldehyde und Alkohole der aliphatischen Reihe etc. Es musste daher untersucht werden, ob diese anderen Bestandtheile des Fuselöls auf die Furfurolreaction des Amylalkohols einen störenden Einfluss haben, oder nicht.

Die meisten Rohsprite zeigen schon direct bei der Behandlung mit concentrirter Schwefelsäure eine Verfärbung, in welcher der violette Farbenton vorherrscht[1]) und welche bei der Spectralanalyse auch den Absorptionsstreifen von der Furfurolreaction des Amylalkohols erkennen lässt. Das im Rohsprit, eigentlich in der fuseligen Beimengung desselben enthaltene Furfurol genügt oft allein zur Hervorrufung einer schönen Furfurolreaction des gleichzeitig vorhandenen Amylalkohols. Die Farben sind aber nicht immer rein, und meistens sehr dunkel.

Diese Schwierigkeit wird beseitigt, wenn man den Weingeist mit reinsiem Aethylalkohol verdünnt und dann, entsprechend der Verdünnung, Furfurolwasser zusetzt. Dabei verschwindet der die Furfurolreaction des Amylalkohols störende Einfluss anderer Bestandtheile des Rohsprits.

Unter Beobachtung der genannten Bedingungen gelingt es — wie Controllversuche gezeigt haben —, einen Gehalt an Amylalkohol von **1 : 10000** im Weingeist mit Sicherheit zu erkennen. Bei dieser Verdünnung ist die Färbung aber schon so schwach, dass die Untersuchung mit dem Spectroscop negativ ausfällt. Die Grenze für die spectroscopische Untersuchung liegt bei einer Verdünnung von **1 : 4000—5000.**

Die Ausführung der Prüfung des Weingeistes auf Fuselöl geschieht am besten in folgender Weise:

5 cbcm. des Weingeistes werden mit 2 Tropfen 0,5procentigen Furfurolwassers versetzt. Man lässt dann zu der Flüssigkeit etwa 5 cbcm. concentrirte Schwefelsäure zufliessen, indem man durch Abkühlen dafür sorgt, dass die Temperatur des Reactionsgemisches nicht über 60° C. steigt. Bei Gegenwart von Fuselöl entsteht an der Berührungsfläche der Flüssig-

---

[1]) Vgl. diese Zeitschrift, Bd. XII, S. 366.

keiten ein rother, allmälig in Violett übergehender Farbenring, welcher nach unten und nach oben durch einen bräunlichen Saum begrenzt ist. Enthält der zu prüfende Weingeist viel Fusel, so ist die Rothfärbung schon gleich so intensiv, dass auch die Spectraluntersuchung vorgenommen werden kann. Ist der entstandene Farbenring dagegen schwach, so lässt man am besten die Probe etwa eine halbe Stunde stehen, und befördert dann durch langsames Schwenken (und zugleich Abkühlung) des Gefässes das Vermischen der Flüssigkeiten. Als charakteristisch für den Amylalkohol — resp. Fuselgehalt des Weingeistes darf nur die in Violett übergehende Rothfärbung und der im vorhergehenden Capitel dieser Mittheilungen beschriebene Absorptionsstreifen gelten.

Bei Untersuchung von einem Weingeist, welcher unmittelbar nur eine sehr schwache Färbung zeigt, gelingt es doch, die Probe mit überzeugender Schärfe zu gewinnen, wenn man den betreffenden Weingeist durch Verdunstung bei **60°** auf etwa den $^1/_{10}$-Theil seines Volums einconcentrirt. Es ist dann im Rückstande der Amylalkohol gewöhnlich so nach der Farbe der Furfurolreaction, wie auch nach den Spectralerscheinungen leicht zu erkennen. Man kann auch den Weingeist einer fractionirten Destillation unterwerfen und die letzte Fraction besonders prüfen.

Alkohole, die in Holzgefässen aufbewahrt werden, nehmen aus dem Holze Stoffe auf, welche mit Furfurol ebenfalls reagiren[1]). Diese Furfurolreactionen haben aber eine von der Furfurolreaction des Amylalkohols abweichende Farbe und zeigen auch keine Spectralerscheinungen. Mit Berücksichtigung dieser Momente kann man sich daher vor Täuschungen schützen.

Fällt die Reaction auf Amylalkohol, resp. Fusel, in dem fraglichen Weingeiste positiv aus, so kann man den Fuselgehalt sehr leicht auch annähernd abschätzen. Man hat nur den betreffenden Weingeist mit reinstem Aethylalkohol so weit zu verdünnen, dass die Grenze für das Auftreten der Spectralerscheinungen und weiterhin die Grenze für die Erkennbarkeit der Färbung erreicht wird. Durch eine einfache

---

[1]) Vgl. diese Zeitschrift, Bd. XII, S. 367.

Umrechnung kann man dann aus den weiter oben angegebenen Zahlen den Fuselgehalt in $^0/_{00}$ oder $^0/_0$ berechnen.

Der weitaus grösste Theil der bisher angewandten Methoden zum Nachweis von Fuselöl beruht darauf, dass man den Amylalkohol von dem Weingeist möglichst abzutrennen versucht, und entweder die hierdurch bedingte Veränderung in den physikalischen Eigenschaften des Weingeistes in Betracht nimmt, oder den Amylalkohol durch die Ueberführung in feste Verbindungen zur Wägung bringt. Dies Letztere ist der Fall z. B. bei der Methode von Marquardt[1]), der den Amylalkohol in isovaleriansaures Baryum umwandelt und aus dessen quantitativer Bestimmung auf den Fuselgehalt des Weingeistes einen Schluss zieht. Alle diese Methoden sind aber recht umständlich und bei der Untersuchung relativ fuselarmer Weingeiste wenig brauchbar. Die Jorissen'sche[2]) Fuselprobe ist zwar leicht ausführbar und scharf, doch zeigt sie — wie es Förster[3]) ermittelt hat — nicht den Amylalkohol, sondern das darin enthaltene Furfurol an. Das Furfurol bildet aber nur einen kleinen Bruchtheil der Beimengungen des Amylalkohols; es ist daher diese Reaction für den Nachweis geringer Mengen Fuselöls nicht hinreichend empfindlich.

Der besondere Vorzug der hier beschriebenen Reaction auf Fuselöl im Weingeist beruht nicht bloss auf der leichten Ausführbarkeit, sondern zugleich — wie es die vorliegenden Versuche zeigen — auf der grossen Schärfe und Empfindlichkeit.

In einer weiteren Mittheilung soll über die von mir beobachtete Entstehung des Furfurols aus dem Eiweiss[4]), welche ich bezüglich der dabei betheiligten Atomgruppen des Eiweissmoleküls genauer untersucht habe, berichtet werden.

Freiburg i. Br., Laboratorium des Professor Baumann.

---

[1]) Berichte d. deutsch. chem. Ges., Jahrg. XV, S. 1370 u. 1661.

[2]) Ibidem, S. 230 u. 324.

[3]) Ibidem, Jahrg. XIII, S. 2439.

[4]) Diese Zeitschrift, Bd. XII, S. 389.

Ueber die Bildung von flüchtigen Fettsäuren bei der ammoniakalischen Harngährung.

Von

Prof. E. Salkowski.

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 20. September 1888.)

Der unverkennbare Geruch nach flüchtigen Fettsäuren, den ich an einem gefaulten Harn schon an sich, mehr aber noch nach Zusatz von Schwefelsäure beobachtete, veranlasste mich, eine Anzahl vergleichender Versuche über den Gehalt von frischem und ammonikalisch gährendem Harn an flüchtigen Fettsäuren zu machen, welche zur Auffindung der bisher, wie es scheint, übersehenen Thatsache führten, dass der normale, in ammoniakalische Gährung gerathene Harn einen nicht ganz unbeträchtlichen Gehalt an flüchtigen Fettsäuren aufweist. Ohne Zweifel sind diese, neben anderen z. Th. unbekannten Substanzen, an dem äusserst haftenden, schlechthin als «urinös» bezeichneten Geruch ammoniakalischer Harne betheiligt.

Die angegebene Thatsache war sehr leicht zu constatiren.

Von normalem eiweiss- und zuckerfreiem Harn wurden zwei Portionen zu je 300 cbcm. abgemessen, die eine sofort mit Säure destillirt, die andere erst, nachdem sie in ammoniakalische Gährung übergegangen war, in beiden Fällen die Destillate titrirt. Zum Ansäuern wählte ich concentrirte Schwefelsäure und zwar 10 cbcm. + 20 cbcm. Wasser. Die Quantität der Säure wurde absichtlich so gross gewählt, weil

man nach der Angabe von v. Rockitansky[1]) nur in diesem Falle sicher ist, die flüchtigen Fettsäuren vollständig zu erhalten. Abdestillirt wurden stets gleiche Mengen, und zwar 230 bis 240 cbcm., so dass etwa 90 cbcm. im Destillirkolben blieben. Die Titrirung geschah mit Einviertel-Normallauge; als Indicator erwies sich Lacmuspapier am geeignetsten.

Die ammoniakalische Gährung trat innerhalb sehr wechselnder Zeit ein: eine Temperatur von 22 bis 25° C. schien für den Eintritt am günstigsten, Bruttemperatur nicht förderlich zu sein. Häufig wurde der Harn mit einigen Tropfen gährenden Harns geimpft, um den Eintritt der Gährung zu beschleunigen.

Nachfolgende kleine Tabelle enthält die an 8 Harnproben erhaltenen Werthe:

Nummer der Harnprobe.	Specifisches Gewicht.	Reaction des Harns		Das Destillat aus 300 cbcm. braucht Einviertel-Normallauge		Zeit zwischen den beiden Untersuchungen.
		a) frisch.	b) zersetzt.	a) frisch.	b) zersetzt.	
I.	1018	sauer	stark alkalisch	2,2 cbcm.	12,9 cbcm.	2 Tage
II.	1020	do.	do.	1,9 »	17,6 »	2 »
III.	1021	do.	schwach alkal.	2,4 »	10,0 »	4 »
		do.	stark alkalisch	2,5 »	14,2 »	6 »
IV.	1017	do.	schwach alkal.	1,9 »	9,0 »	3 »
V.	1020	do.	do.	1,6 »	8,0 »	4 »
VI.	1016	do.	stark alkalisch	1,4 »	14,3 »	5 »
VII.	1017	do.	do.	2,2 »	11,6 »	2 »

Im Mittel aus 8 Versuchen erforderten somit die flüchtigen Fettsäuren aus 300 cbcm. frischen Harns 2,0 cbcm. Einviertel-Normallauge, die des gefaulten Harns 12,2 cbcm. Die Vermehrung betrug also mehr als das 6fache. In Wirklichkeit ist sie sicher höher zu veranschlagen, da alle Destillate Spuren von Salzsäure enthielten. Da der Gehalt hieran in den Destillaten aus gefaultem Harn nicht grösser war, wie in den aus frischem Harn erhaltenen, auch nicht abzusehen

[1]) Oesterr. Med. Jahrb., 1887.

ist, warum dieses der Fall sein sollte, so ist anzunehmen, dass der durch den minimalen Salzsäuregehalt verursachte Fehler in allen Fällen derselbe war. Es ist einleuchtend, dass die Vermehrung gegenüber dem frischen Harn dadurch geringer erscheinen muss, als sie in Wirklichkeit war. Es kommt ferner in Betracht, dass einige der untersuchten Harne sich noch im Beginn der ammoniakalischen Gährung befanden.

Rechnet man den mittleren Werth für die flüchtigen Säuren des normalen Harns auf eine Tagesquantität von 1500 cbcm. aus, so würden dieselben 10 cbcm. Einviertel-Normallauge = 2,5 cbcm. Normallauge zur Neutralisation erfordern. Nimmt man als flüchtige Säure Essigsäure an, so entspricht die angegebene Quantität Natronlauge 0,15 gr. Essigsäure. v. Rockitansky fand für die 24stündige Harnmenge im Mittel einen Gehalt von 0,0545 gr. Fettsäuren, in zwei Fällen aber, in denen reichlich Kohlehydrate gemessen waren, wurden aus der 24stündigen Harnmenge 0,417 resp. 0,406 gr. fettsaures Natron erhalten. Der oben angeführte Werth von 0,15 gr. Essigsäure ist ohne Zweifel etwas zu hoch, liegt aber jedenfalls innerhalb der von v. Rockitansky angegebenen.

Die flüchtigen Fettsäuren aus dem gefaulten Harn würden, auf 1500 cbcm. umgerechnet, 15,25 cbcm. Normalnatronlauge erfordern, entsprechend 0,915 gr. Essigsäure pro Tag.

Sehr auffällig sind die grossen Schwankungen in den Einzelwerthen. Die Quantität des erforderten Natron hängt weder von der Dauer des Stehens des Harns, noch von seiner Concentration ab, sondern augenscheinlich von der Intensität der ammoniakalischen Gährung. So erklärt sich, dass gerade die Destillate von zwei Harnen, die nur 2 Tage gestanden hatten, am meisten flüchtige Fettsäuren enthielten, in Uebereinstimmung mit einem starken Gehalt an Ammoniumcarbonat.

Man könnte nun vielleicht der Vermuthung Raum geben, dass die im Destillat des gefaulten Harns vorhandene Säure zu einem ansehnlichen Theil gar nicht flüchtige Fettsäure sei, sondern Kohlensäure, aus dem Ammoniumcarbonat stammend. Ein solches Destillat würde, mit Natronhydrat in der Kälte titrirt, gleichfalls neutrale Reaction annehmen, sobald sich

das primäre Salz gebildet hat. Allein diese Vermuthung lässt sich leicht als irrthümlich erweisen.

1. Erhitzt man das neutralisirte Destillat nach dem Titriren, so muss, falls Kohlensäure im Spiel ist, die Reaction alkalisch werden, indem sich das Mononatriumcarbonat in Dinatriumcarbonat und entweichende Kohlensäure spaltet. Dies ist jedoch nicht der Fall. Im Gegentheil: die neutralisirten Destillate nehmen bei erneutem Destilliren resp. Eindampfen schwach saure Reaction an. Die Ursache davon ist die Gegenwart von Spuren von Ammoniak im Destillat, an Fettsäuren gebunden, welches beim Eindampfen mehr oder weniger vollständig entweicht. In der That ist sowohl im ersten, als auch im zweiten Destillat Ammoniak durch Nessler'sches Reagens nachweisbar.

2. Ammoniakalischer Harn wurde zur Entfernung der Kohlensäure mit Barytwasser und Chlorbaryum ausgefällt, filtrirt, das Filtrat mit Schwefelsäure im Ueberschuss versetzt, vom Baryumsulfat abfiltrirt und destillirt. Das Destillat aus 300 cbcm. Harn brauchte 13,6 cbcm. Einviertel-Normalnatron.

3. Endlich wurde frischer Harn mit Ammoniumcarbonat versetzt bis zur stark alkalischen Reaction, dann mit Schwefelsäure angesäuert und destillirt. Das Destillat brauchte zur Herstellung neutraler Reaction 2,2 cbcm. Einviertel-Normalnatron, die direct verarbeitete Controllportion 2,0 cbcm.

Es ist also ausgeschlossen, dass ein irgend in's Gewicht fallender Theil der flüchtigen Säure aus dem zersetzten Harn Kohlensäure ist.

Bleibt der Harn lange Zeit der Fäulniss überlassen, so ist die aus ihm zu erhaltende Quantität Fettsäure weit grösser. Eine Quantität normalen Harns war 5 Wochen lang bei Sommertemperatur sich selbst überlassen. 300 cbcm. dieses Harns lieferten beim Destilliren mit Schwefelsäure Fettsäure entsprechend 31,8 resp. 32,4 cbcm. oder im Mittel 32,1 cbcm. Einviertel-Normalnatron. Dieses würde für 1500 cbcm. Harn nicht weniger als 2,408 gr. Essigsäure ergeben.

Zur näheren Feststellung der Natur der flüchtigen Fettsäuren aus gefaultem Harn wurden zunächst die neutralisirten Destillate aus den in der Tabelle angeführten Versuchen, soweit sie aus zersetztem Harn stammten, successive vereinigt und auf dem Wasserbad völlig zur Trockne gedampft (in vielen Fällen waren die neutralisirten Destillate vorher noch einer erneuten Destillation unterworfen worden). Der Rückstand wurde mit verdünnter Schwefelsäure destillirt, bis Benzoësäure überzugehen anfing. Das Destillat war klar, zeigte jedoch an der Oberfläche einige Oeltröpfchen und Spuren von Benzoësäurekrystallen, es roch unverkennbar nach Buttersäure und war vollkommen frei von Salzsäure. Es wurde, ohne die Oeltröpfchen abzuscheiden, mit Ammoniak alkalisirt, die klare Flüssigkeit auf dem Wasserbad auf ein kleines Volumen eingedampft — sie reagirte danach schwach sauer —, erkalten gelassen und mit Silbernitratlösung in geringem Ueberschuss gefällt. Die entstandene breiige Masse wurde mit Wasser verdünnt, der Niederschlag abfiltrirt, einigemal mit Wasser gewaschen, auf porösem Porzellan abgesogen und im Dunkeln über Schwefelsäure getrocknet, und zwar der zu den Analysen bestimmte Theil bis zur Gewichtsconstanz. Das erhaltene Silbersalz war fast weiss mit leichtem bräunlichen Ton, die Waschwässer zeigten beim Stehen, schneller beim Erhitzen Reduction, vielleicht von Ameisensäure herrührend.

1. 0,3399 gr. des Silbersalzes hinterliessen bei anhaltendem Glühen 0,2133 gr. metallisches Silber = 62,75%.
2. 0,3175 gr. gaben 0,1997 gr. Silber = 62,90%.

Essigsaures Silber erfordert 64,67 Ag, propionsaures 59,67%.

Unter der Annahme, dass das Destillat nur Essigsäure und Propionsäure enthielt, würde die Essigsäure also etwas mehr als die Hälfte betragen (ein Gemisch gleicher Theile propionsaures und essigsaures Silber enthält 62,17% Ag). Da aber ohne Zweifel auch höhere, unlösliche Fettsäuren vorhanden waren mit geringerem Silbergehalt der Silbersalze, ferner, nach dem Geruch zu urtheilen, auch Buttersäure, ja selbst etwas Benzoësäure, so kommt man wohl der Wahrheit näher, wenn man ein Ueberwiegen der Essigsäure unter den

Producten der ammoniakalischen Gährung annimmt. Da die genauere Feststellung dieses Thatbestandes kein erhebliches Interesse bietet, so habe ich dieselbe vorläufig aufgeschoben.

Ganz ebenso wurde auch mit dem Destillat aus 600 cbcm. Harn, der 5 Wochen gestanden hatte, verfahren. Das Silbersalz war vollkommen weiss, das Waschwasser zeigte keine Reduction. Der Silbergehalt des bis zur Gewichtsconstanz über Schwefelsäure getrockneten Silbersalzes wurde etwas niedriger gefunden.

1. 0,383 gr. gaben 0,2377 Ag = 62,06%.
2. 0,1597 gr. gaben 0,0991 Ag = 62,05%.

Was nun die Quelle der flüchtigen Fettsäuren betrifft, so liegt es sehr nahe, hierbei an den von so vielen Seiten als sicher angesehenen Gehalt des Harns an Traubenzucker resp. an Kohlehydraten zu denken. Dieses war auch der Gesichtspunkt, von welchem aus es mir der Mühe werth erschien, die im Eingang der Abhandlung erwähnte Beobachtung weiter zu verfolgen. Es ist nicht meine Absicht, näher auf die Geschichte dieser Frage einzugehen, ich glaube aber, so viel wird man allgemein zugeben, dass die Beweise für die Gegenwart kleiner Quantitäten von Zucker resp. Kohlehydraten im Harn sich in neuerer und neuester Zeit mehr und mehr gehäuft haben. Von besonderem Interesse sind in dieser Beziehung aus neuester Zeit die Beobachtungen von v. Udránszky.

Nachdem v. Udránszky[1]) einerseits gezeigt hat, dass sich bei der Einwirkung von Schwefelsäure auf Zucker Furfurol bildet, andererseits dass sich aus dem Harn durch Benzoylchlorid und Natronlauge Niederschläge erhalten lassen, welche mit Schwefelsäure Furfurol bilden, endlich dass das Furfurol in charakteristischer Weise mit α-Naphthol + Schwefelsäure reagirt, ist es in der That sehr wahrscheinlich geworden, dass der Harn stets Kohlehydrate enthält und die Reaction des Harns mit α-Naphthol + Schwefelsäure auf seinem

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. XII, S. 377.

Gehalt an Zucker resp. Kohlehydraten beruht, wie Molisch[1]) von Anfang an, jedoch ohne ausreichende Begründung, behauptet hat.

Enthält der normale Harn in der That Kohlehydrate, so war es im höchsten Grade wahrscheinlich, dass sie bei der ammoniakalischen Gährung zersetzt werden, und durchaus verständlich, dass sie dabei in flüchtige Fettsäuren resp. Essigsäure übergehen. Den Prüfstein für die Richtigkeit aller dieser Erwägungen bildet nun offenbar das Verhalten des zersetzten Harns zu α-Naphthol + Schwefelsäure. Bleibt die Reaction hiermit in diesem Harn aus, so ist in der That nicht daran zu zweifeln, dass der Harn Kohlehydrate enthält und diese die Quelle der Fettsäuren sind. Es müssten, um diesen Schluss zu entkräften, noch andere Substanzen ausser den Kohlehydraten im Harn existiren, welche die Reaction von Molisch geben, der fermentativen Spaltung fähig sind und dabei flüchtige Fettsäuren liefern. Solche aber kennen wir bisher nicht, es kämen höchstens die Eiweisskörper in Betracht. Diese sind aber, wenn überhaupt, nur in verschwindenden Spuren im Harn enthalten.

In der That verhält sich Harn, der lange Zeit gefault hat, bei Anstellung der Reaction von Molisch wesentlich anders, wie frischer Harn. Macht man die Prüfung, wie v. Udránszky vorgeschlagen hat, mit 1 bis 2 Tropfen Harn, so erhält man gar keine Reaction; nimmt man mehr Harn, so bleibt sie nicht ganz aus, ist aber unvergleichlich schwächer, als in frischem Harn. Damit ist meines Erachtens erwiesen, dass die Fettsäuren des ammoniakalisch gährenden Harns aus in dem Harn enthaltenen Kohlehydraten stammen.

Dieser indirecte Nachweis für die Anwesenheit von Kohlehydraten im Harn ist nun freilich seitdem überholt worden dadurch, dass Wedenski unter Baumann's Leitung Benzoylverbindungen des Traubenzuckers und einer dextrin-ähnlichen Substanz aus normalem Harn dargestellt und ihre Identität durch die Analyse erwiesen hat, wie Baumann in

---

[1]) Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wiss., Bd. 93, 2. Abth., S. 912.

den Ber. d. d. chem. Ges., Bd. XXI, S. 2744 kurz mittheilt; dass dieser directe Nachweis allen auf einer Reihe von Schlüssen beruhenden weit überlegen ist, ist selbstverständlich. Allein die Notiz von Baumann lag bei Abschluss meiner Versuche noch nicht vor und ich halte auch trotz derselben meine Beobachtungen für mittheilenswerth, so sehr sie auch durch dieselbe an Interesse eingebüsst haben.

Eine Erscheinung harrt übrigens noch der Aufklärung. Nach v. Udránszky sind an der Entstehung der Huminsubstanzen beim Erhitzen des Harns mit Säuren die Kohlehydrate desselben betheiligt. Man sollte dementsprechend erwarten, dass gefaulter Harn, der wenigstens des grössten Theiles seiner Kohlehydrate beraubt ist, beim Kochen mit Säuren keine Huminsubstanzen liefert. Dem ist jedoch nicht so. Der zersetzte Harn lieferte gleichfalls Huminsubstanzen und zwar anscheinend nicht weniger, wie der frische, deren Zusammensetzung allerdings möglicherweise eine andere sein könnte. Ebenso ist es auffallend, dass der zersetzte Harn beim Erhitzen mit Schwefelsäure die Schiff'sche Furfurolreaction noch in ausgeprägter Weise giebt, welche nach v. Udránszky gleichfalls auf die Anwesenheit von Kohlehydraten im Harn zu beziehen ist. Diese Beobachtungen bedürfen noch der Aufklärung durch weitere Untersuchungen.

Reicht nun aber der Gehalt an Kohlehydraten im Harn überhaupt aus, um die Entstehung verhältnissmässig grosser Mengen von Fettsäuren zu erklären? Diese Frage ist um so mehr aufzuwerfen, als die Zersetzung der Kohlehydrate bei der ammoniakalischen Gährung anscheinend keine ganz vollständige ist. Nehmen wir den für diese Annahme günstigsten Fall an, dass nur Essigsäure aus dem Traubenzucker entstände und keinerlei Nebenproduct, so müssten 1500 cbcm. 2,408 gr. Traubenzucker enthalten oder 100 cbcm. 0,16 gr. Ein Gehalt von 0,16 % müsste sich durch die Gährungsprobe zu erkennen geben, die in fast allen untersuchten Harnen angestellt ist und regelmässig negativ ausfiel. So hoch kann der Gehalt des normalen Harns an Zucker nicht sein. Nun können wir zwar annehmen, dass auch andere, nicht der

alkoholischen Gährung fähige Kohlehydrate im Harn vorhanden und an der Bildung der Fettsäuren betheiligt sind, immerhin aber muss man die Möglichkeit in Betracht ziehen, dass nicht nur die Kohlehydrate, sondern auch andere Harnbestandtheile bei der ammoniakalischen Gährung Fettsäuren liefern könnten. Von diesem Gesichtspunkt aus habe ich einige vorläufige Versuche angestellt.

1. Harnsäure fand sich in dem 5 Wochen alten Harn in reichlicher Menge, und zwar nur Spuren in Lösung, durch das Silberverfahren nachweisbar, die Hauptmenge im Sediment. Die mikroskopische Untersuchung desselben zeigte die bekannten knolligen Formen, die man als harnsaures Ammon zu bezeichnen pflegt. (Ich möchte bei dieser Gelegenheit bemerken, dass mir die Richtigkeit dieser Bezeichnung sehr zweifelhaft erscheint. Aeusserlich vollkommen gleiche Drüsen und Knollen bildet unter Umständen das Magnesiumsalz der Harnsäure.)

2. Auch Kreatinin ist reichlich in dem zersetzten Harn enthalten. Derselbe giebt sowohl die Weyl'sche Kreatininreaction in sehr ausgeprägter Weise (auch nach dem Kochen) in Uebereinstimmung mit den Angaben von Colasanti[1]), als auch Kreatininchlorzink in ansehnlicher Menge bei entsprechender Bearbeitung. Es diente hierzu der beim Destilliren des Harns mit Schwefelsäure im Kolben bleibende wässrige Rückstand. Derselbe wurde mit Wasser verdünnt, mit Barytwasser gefällt, filtrirt, das Filtrat mit Salzsäure neutralisirt, eingedampft, Rückstand mit Alkohol ausgezogen, der alkoholische Auszug mit Chlorzink und ein wenig Natriumacetat versetzt. Ob die Quantität des Kreatinins keinerlei Abnahme erfährt, ist freilich noch festzustellen, nach der Quantität des erhaltenen Kreatininchlorzink ist es mir wahrscheinlich, dass das Kreatinin nicht angegriffen wird. Das angewendete Verfahren scheint auch für frischen Harn sehr brauchbar zu sein.

---

1) Moleschott's Untersuchung. zur Naturlehre, XIII, Sep.-Abdr.

3. Der Gehalt an durch Destillation mit Säuren zu erhaltendem Aceton, der nebenher (ohne Zusammenhang mit der Frage der Abstammung der Fettsäuren) untersucht ist, scheint durch die ammoniakalische Gährung keine Aenderung zu erfahren. Das Aceton ist dabei allerdings nicht quantitativ bestimmt, sondern nach der Menge des beim Zusatz von Jod-Jodkaliumlösung und Natronlauge ausfallenden Jodoform geschätzt. Selbstverständlich musste ich dabei darauf Bedacht nehmen, möglichst alles Aceton (resp. jodoformbildende Substanz) in das Destillat zu erhalten, das überhaupt aus dem Harn zu gewinnen war. Hierzu genügt es nicht, wenn man nur etwa die ersten übergehenden 10 cbcm. auffängt. Durch gesondertes Auffangen von je 10 cbcm. bei Anwendung von 300 cbcm. Harn kann man sich leicht überzeugen, dass in der 5. Portion die Reaction mitunter noch recht deutlich ausfällt. Mit den ersten 50 cbcm. ist die Hauptquantität überdestillirt, aber bei Weitem noch nicht alles. Fängt man das Destillat in Antheilen von je 50 cbcm. auf, so giebt noch der 4. Antheil (viel weiter lässt sich die Destillation nicht treiben) eine Abscheidung von Jodoform.

Mit Recht schreibt daher auch v. Jacksch[1]) für seine Methode der quantitativen Bestimmung des Acetons vor, so viel als möglich abzudestilliren. Ich möchte aber auch für die qualitative Prüfung empfehlen, bei Anwendung von 300 cbcm. wenigstens 100 cbcm. abzudestilliren; unwillkürlich wird man sich doch auch bei der qualitativen Prüfung auf Aceton ein Urtheil über die Menge des Acetons bilden, man thut daher gut, die zweiten 50 cbcm. Destillat, die noch recht viel Jodoform liefern im Verhältniss zum ersten Destillat, nicht zu vernachlässigen.

Mitunter habe ich die Untersuchung auf Aceton auch mit der Untersuchung auf flüchtige Fettsäuren vereinigt, indem ich das erste Destillat zuerst titrirte, dann auf's Neue überdestillirte.

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. VI, S. 551.

Endlich bemerke ich noch, dass mir die Quantität der dem Harne zuzusetzenden Säure bei der Untersuchung auf Aceton mehr Beachtung zu verdienen scheint, als ihr bisher zugewendet ist. Für den qualitativen Nachweis findet sich keine bestimmte Vorschrift, es heisst meistens nur, dass man den Harn ansäuern soll. Durch Doppelversuche aus demselben Harn habe ich mich überzeugt, dass ein Zusatz von 1 cbcm. concentrirter Schwefelsäure zu 300 cbcm. Harn nicht genügt, da man mit demselben Harn bei Zusatz von 10 cbcm. conc. Schwefelsäure entschieden mehr Jodoform bekommt. Dass gerade eine so grosse Quantität erforderlich, kann ich natürlich nicht behaupten. v. Jacksch schreibt bei seiner Methode der quantitativen Bestimmung 3 cbcm. Salzsäure auf 100 cbcm. Harn vor: auch dieser Zusatz scheint mir etwas zu gering zu sein, indessen möchte ich dies nicht bestimmt behaupten.

4. Phenol resp. Kresol wurde in gefaultem Harn vermehrt gefunden, wie breits Baumann angegeben hat. Die Vermehrung rührt nach ihm bekanntlich von der Spaltung der Oxysäuren und Aetherschwefelsäuren her.

5. Das Reductionsvermögen des gefaulten Harns für Kupferoxyd in alkalischer Lösung und Silberoxyd ist ein ziemlich starkes.

Eine weitere Quelle für die flüchtigen Fettsäuren, als die Kohlehydrate, hat sich also bisher nicht ergeben, doch soll die Untersuchung hierüber, sowie über die ammoniakalische Harngährung überhaupt noch fortgesetzt werden.

Untersuchungen über die Glykuronsäure.

2. Mittheilung[1]).

Von

Dr. Hans Thierfelder.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut in Strassburg.)

(Der Redaction zugegangen am 21. September 1888.)

Verbindung mit Benzoylchlorid.

Ueber Versuche, die Glykuronsäure zu benzoyliren, habe ich bereits in der vorigen Mittheilung berichtet. Bei Anwendung von Mengenverhältnissen, wie sie Baumann[2]) zur Darstellung eines Tetrabenzoyltraubenzuckers benutzt hat (1 Mol. Dextrose, 9 Mol. Benzoylchlorid, 18 Mol. Natronhydrat), entstand, wie erwähnt, nur ein ganz geringer Niederschlag. Ein besseres Resultat ergab sich beim Schütteln von Mischungen, die auf 1 Mol. Glykuronsäure 9 Mol. Benzoylchlorid und 12 Mol. Natronhydrat (in 10% Lösung) enthielten: es bildete sich ein reichlicher zäher Niederschlag, der abfiltrirt, gewaschen, über Schwefelsäure getrocknet und dann zur Entfernung der freien Benzoesäure wiederholt mit Petroläther ausgekocht, sowie zur Entfernung des benzoesauren Natriums und des Chlornatriums mit Wasser zerrieben und decantirt wurde. Der so gereinigte Körper löst sich in Alkohol, besonders in heissem, sehr leicht und scheidet sich aus der kalt gesättigten alkoholischen Lösung beim langsamen Verdunsten als zäher Syrup, aus der heiss

---

1) Ich nehme hier Gelegenheit, einen Druckfehler, der in der 1. Mittheilung (diese Zeitschrift, 11. Bd., S. 388) stehen geblieben ist, zu berichtigen. S. 391 Z. 26 muss es heissen: 10 Theile Euxanthinsäure werden, statt: 1 Theil Euxanthinsäure wird.

2) Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 19, S. 3218. 1886.

gesättigten in Form gleichmässig runder mikroskopischer Kügelchen ab; in Wasser ist er ganz unlöslich, zerreibt man ihn in Wasser und bringt die Mischung auf das Wasserbad, so schmilzt er schon bei gelinder Wärme zu einer weichen Masse zusammen, die beim Erkalten sofort fest, spröde und leicht pulverisirbar wird; er reducirt Fehling'sche Lösung; der Schmelzpunkt liegt bei 107°. Die Analyse der unter der Luftpumpe getrockneten Substanz ergab Werthe, welche am besten für eine zweifach benzoylirte Glykuronsäure stimmen.

0,16976 gr. Substanz lieferten 0,3744 gr. CO_2 und 0,0641 gr. H_2O.

	Gefunden:	Berechnet für $C_6H_8O_7(C_6H_5CO)_2$:
C	60,15	59,70
H	4,195	4,47

Verbindung mit aromatischen Aminen und Diaminen.

In der letzten Zeit ist von verschiedenen Seiten die Einwirkung aromatischer Amine und Diamine auf Dextrose und andere Zuckerarten studirt; es gelang zum Theil schön krystallisirende Verbindungen von Kohlehydraten mit Anilin und Toluidin[1]), mit o-Diamidobenzol[2]), mit m-p-Diamidotoluol[3]) zu gewinnen. Ich habe das Verhalten der Glykuronsäure zweien dieser Körper, dem Anilin und dem m-p-Diamidotoluol gegenüber untersucht.

Verbindung mit Anilin. Glykuronsäureanhydrid und Anilin wirken schon bei ganz gelinder Wärme sehr stürmisch auf einander. Die Reaction verläuft unter starker Erhitzung und Dunkelfärbung und so weitgehender Zersetzung, dass es nicht gelingt, analysirbare Producte zu erhalten; dagegen lieferten glykuronsaures Kali und Anilin eine krystallisirende Verbindung. Als Lösungsmittel für die beiden Sub-

---

[1]) Schiff, Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 140, S. 123, Bd. 154, S. 30; Sorokin, Journ. f. pr. Chem., N. F., Bd. 37, S. 291. 1888.

[2]) Griess u. Harrow, Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 20, S. 281, 2205, 3111. 1887.

[3]) O. Hinsberg, Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 20, S. 495. 1887.

stanzen benutzte ich einen wasserhaltigen Alkohol, der sich auch Sorokin[1]) bei der Darstellung der Glykosanilide als zweckmässig erwiesen hatte. Die Methode ist folgende: einige gr. glykuronsaures Kali werden in einem kleinen Kolben mit 5—10 cbcm. Anilin und 100—150 cbcm. 85—90% Alkohol übergossen und auf dem Wasserbad eine Zeit lang, vielleicht eine halbe Stunde, am Rückflusskühler gekocht; man filtrirt heiss ab, versetzt das im Kolben zurückgebliebene ungelöste glykuronsaure Kali abermals mit Anilin und Alkohol, erhitzt und filtrirt wieder und so fort, bis schliesslich alles Kalisalz in Lösung gegangen und in Reaction mit dem Anilin getreten ist. Die Filtrate werden etwas eingeengt und dann mit absolutem Alkohol und mit Aether gefällt: dabei scheidet sich der neue Körper sofort und vollständig in schneeweissen glitzernden Flitterchen ab, die unter dem Mikroskop als unregelmässige Blättchen oder zuweilen auch als gut ausgebildete, in Gruppen zusammenliegende Nadeln erscheinen. Man decantirt zur Entfernung des Anilin noch mehrmals mit absolutem Alkohol, filtrirt und trocknet über Schwefelsäure. Das getrocknete Präparat stellt eine weisse, glänzende, filzige Masse dar, die sich gut zerreiben lässt und sich in trocknem Zustande nicht zersetzt. Die Analyse der unter der Luftpumpe über Schwefelsäure getrockneten Substanz ergab folgende Werthe:

1. 0,1880 gr. lieferten 0,3243 gr. CO_2 nnd 0,0778 gr. H_2O.
2. 0,2002 gr. lieferten 0,3440 gr. CO_2 und 0,0820 gr. H_2O.
3. 0,2154 gr lieferten 0,0112 gr. NH_3.
4. 0,1932 gr. lieferten 0,0518 gr. K_2SO_4.

	Gefunden:				Berechnet für
	1.	2.	3.	4.	$C_{12}H_{14}O_6KN$:
C	47,0	46,86	—	—	46,9
H	4,6	4,55	—	—	4,56
N	—	—	4,28	—	4,56
K	—	—	—	12,0	12,7

Der Körper ist also durch Zusammentreten von einem Molekül glykuronsaures Kali und einem Molekül Anilin unter

1) L. c., S. 492.

Austritt von einem Molekül Wasser enstanden nach der Gleichung:

$$C_6H_9O_7K + C_6H_5NH_2 = C_6H_5N - C_6H_9O_6K + H_2O;$$

er entspricht vollkommen dem von Sorokin dargestellten Dextrosanilid, mit dem er auch im mikroskopischen Verhalten die grösste Aehnlichkeit zeigt.

Das anilinglykuronsaure Kali ist in Alkohol und Aether sehr wenig, in Wasser leicht löslich; wässrige Lösungen zersetzen sich an der Luft alsbald unter Braunfärbung; der Körper schmilzt bei 177° unter Zersetzung, nachdem schon vorher Dunkelfärbung eingetreten ist; er reducirt alkalische Kupferlösung in der Wärme und dreht die Ebene des polarisirten Lichtes nach links, verhält sich also auch in dieser Beziehung wie das Dextrosanilid.

Eine Bestimmung der specifischen Drehung scheiterte bisher an der Schwerlöslichkeit der Substanz in Alkohol und an der leichten Zersetzlichkeit der wässrigen Lösung. Zur Untersuchung benutzte ich eine wässrige Lösung, die in 1 cbcm. 0,02184 gr. anilinglykuronsaures Kali enthielt. Die specifische Ablenkung $(\alpha)_D$, welche einige Stunden nach Anfertigung der Lösung zu — 18,8 gefunden wurde, ging innerhalb der nächsten Zeit ganz bedeutend herunter und war nach 20 Stunden auf — 4 gesunken. Jetzt blieb sie mehrere Tage lang, während denen ich die Beobachtungen fortsetzte, constant; mit der Abnahme der Drehung Hand in Hand ging ein Dunklerwerden der Flüssigkeit. Es kann nicht zweifelhaft sein, dass der gefundene Werth nicht der richtige Ausdruck des Ablenkungsvermögens ist, sondern abhängig von Zersetzungsvorgängen innerhalb der Lösung.

Verbindung mit Toluylendiamin. Bei der Darstellung dieser Verbindung erwies sich die oben beschriebene Methode als unbrauchbar; ich versuchte deshalb, die Körper in wässriger Lösung auf einander wirken zu lassen, und löste zu dem Zweck glykuronsaures Kali in Wasser, fügte Toluylendiamin[1])

---

[1]) Das Präparat war aus m-Nitro-p-Toluidin durch Reduction mit Zinn und Salzsäure gewonnen.

hinzu und zwar so viel, dass etwas mehr als ein Molekül auf zwei Moleküle Kalisalz kamen, und dampfte die klare Flüssigkeit auf dem Wasserbad bis zum beginnenden Syrup ein; nach einiger Zeit erstarrte die ganze Masse krystallinisch; sie wurde mit absolutem Alkohol wiederholt zerrieben, um das überschüssige Toluylendamin zu entfernen, und dann über Schwefelsäure getrocknet. Die Analyse lieferte folgende Zahlen:

1. 0,1889 gr. gaben 0,2718 gr. CO_2 und 0,0729 gr. H_2O.
2. 0,5444 gr. gaben 0,1602 gr. K_2SO_4.

	Gefunden:	Berechnet für $C_{19}H_{24}O_{12}K_2N_2 + 2H_2O$:
C	39,24	38,9
H	4,29	4,78
K	13,19	13,31

Es sind also zwei Moleküle glykuronsaures Kali und ein Molekül Toluylendiamin in Reaction getreten nach der Gleichung:

$$2\,C_6H_9O_7K + C_7H_6(NH_2)_2 = C_7H_6 < \begin{matrix} N = C_6H_9O_6K \\ N = C_6H_9O_6K \end{matrix} + 2\,H_2O.$$

Auch diese Verbindung entspricht vollkommen der, welche von Hinsberg[1]) durch Vereinigung von Traubenzucker und Toluylendiamin erhalten wurde.

Das toluylendiaminglykuronsaure Kali verhält sich den Lösungsmitteln gegenüber ebenso wie die Anilinverbindung; die wässrigen Lösungen scheinen noch weniger beständig zu sein; sie reduciren ebenfalls Fehling'sche Flüssigkeit und drehen die Polarisationsebene nach links; durch Eisenchlorid werden sie roth gefärbt, ebenso wie reine Toluylendiaminlösung. Das trockne Präparat bläht sich bei 130° sehr stark auf und zersetzt sich bei höherer Temperatur, ohne zu schmelzen.

Die beiden eben beschriebenen Verbindungen bieten insofern ein ganz besonderes Interesse dar, als sie linksdrehend sind, sich also in dieser Beziehung den gepaarten Glykuronsäuren anschliessen. Es ist nicht unwahrscheinlich, dass die

---

1) Loc. cit.

Linksdrehung in allen diesen Glykuronsäureverbindungen bedingt ist durch den Ort der Anlagerung. Dieselbe findet in sämmtlichen in Rede stehenden Körpern an die Aldehydgruppe der Glykuronsäure statt. Auf diese Beziehung zwischen Drehungsrichtung und chemischer Constitution hat auch schon Sorokin[1]) aufmerksam gemacht.

Einwirkung von Alkalien.

Die Versuche, welche den Zweck hatten, die unter dem Einfluss der Alkalien aus der Glykuronsäure entstehenden Producte kennen zu lernen, wurden in der Weise angestellt, dass je 5 gr. Glykuronsäure 1. mit 20 cbcm. einer 25procentigen Kalilauge in einer Retorte 20—25 Stunden bis auf 120° erhitzt, 2. mit 8 cbcm. einer 33procentigen Kalilauge 20 Stunden im Wasserbad bei 60—70°, schliesslich in der Siedehitze behandelt, und 3. mit 50 cbcm. einer 25procentigen Kalilauge 48 Stunden im Wasserbad bei 30—50° digerirt wurden. In Versuch 2 und 3 waren nach dieser Zeit noch reichliche Mengen unzersetzter Glykuronsäure vorhanden. Die weitere Behandlung war stets dieselbe. Die Flüssigkeit wurde mit Schwefelsäure neutralisirt, eingedampft, angesäuert und mit Aether extrahirt; beim Verdunsten des Aethers hinterblieb ein zum Theil krystallisirender Rückstand, der in Wasser gelöst, auf dem Wasserbad zur Entfernung der flüchtigen Säuren längere Zeit digerirt und dann mit Soda übersättigt wurde; ich schüttelte nun mit Aether zur Abtrennung des etwa gebildeten Brenzkatechin, säuerte mit Essigsäure an und extrahirte abermals mit Aether zur Gewinnung der Protokatechusäure. Da durch Essigsäure die oxalsauren Salze nicht, die milchsauren nur zum Theil zerlegt werden, so mussten diese in der mit Aether ausgeschüttelten essigsauren Lösung zurückgeblieben sein; dieselbe wurde deswegen auf Oxalsäure, Milchsäure u. s. w. geprüft. In allen drei Versuchen hatte sich Oxalsäure gebildet, in dem ersten, in welchem das Alkali am stärksten eingewirkt hatte, sehr reichliche Mengen, ebenso war Brenzkatechin entstanden (Eisenchloridreaction); Protokatechusäure fehlte in

---

1) Loc. cit., S. 317.

und in der 3. Periode enthielt das entwickelte Gas nur Kohlensäure und Sumpfgas, und keine Spur von Wasserstoff. Ich lasse je eine Analyse aus der 1. und 3. Periode folgen:

V_1 = abgelesenes Volumen,

V = auf 0° und 1 Met. Druck reducirtes Volumen.

Probe aus der 1. Periode.

	V_1	Druck.	Temp.	V
Gas feucht gemessen . . .	40,7983	0,7415	9,88	31,289
Nach Absorption der CO_2 .	10,5104	0,742	9,7	9,069
Uebergeführt in's Eudiometer:				
Luft	54,8590	0,7491	8,86	17,77
+ Gas . . . . ,	72,0265	0,7493	9,05	26,26
+ O	90,2383	0,7480	9,0	36,78
Nach der Explosion. . . .	72,1230	0,744	8,15	26,35
Nach Absorption der CO_2 .	67,0570	0,749	7,8	26,29

Resultat: 71,015 % CO_2,
23,73 » H,
5,255 » N.

Probe aus der 3. Periode.

	V_1	Druck.	Temp.	V
Gas feucht gemessen . . .	18,5588	0,7565	16,6	10,73
Nach Absorption der CO_2 .	12,7438	0,760	16,6	7,08
Uebergeführt in's Eudiometer:				
Luft	43,6692	0,7605	16,5	8,96
+ Gas	61,3681	0,7632	16,18	16,31
+ O	95,0010	0,7630	16,4	34,87
Nach der Explosion. . . .	68,6307	0,7626	16,1	19,70
Nach Absorption der CO_2 .	45,4857	0,7560	16,77	12,37

Resultat: 34,02 % CO_2,
65,8 » CH_4.

An der Hand der Analysen kann man die chemischen Vorgänge, welche sich an der Glykuronsäure abgespielt haben, folgendermassen auffassen: Dieselbe zerfällt zunächst in Essigsäure, Milchsäure und Kohlensäure, die Milchsäure weiter in Essigsäure, Kohlensäure und Wasserstoff: 1. Periode. Während letzterer Process noch fortdauert, geht auch die Essigsäure über in Sumpfgas und Kohlensäure: 2. Periode. Schliesslich ist nur noch Essigsäure vorhanden, die sich glatt in Kohlensäure und Sumpfgas umsetzt, wie Hoppe-Seyler[1]) gefunden hat: 3. Periode.

Die Processe lassen sich durch folgende Gleichungen ausdrücken:

$$(C_6H_9O_7)_2Ca + CaCO_3 = (C_2H_3O_2)_2Ca + (C_3H_5O_3)_2Ca + 3\,CO_2 + H_2O,$$

$$(C_3H_5O_3)_2Ca + 2\,H_2O = (C_2H_3O_2)_2Ca + 2\,CO_2 + 4\,H_2,$$

$$(C_2H_3O_2)_2Ca + H_2O = CO_2 + CaCO_3 + 2\,CH_4.$$

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 11, S. 560. 1887.

Ueber die Tension des Sauerstoffs im Blute und in Oxyhämoglobinlösungen.

II. Mittheilung.

Von

G. Hüfner.

(Der Redaction zugegangen am 3. October 1888.)

In meiner letzten Mittheilung «Ueber die Tension des Sauerstoffs im Blute und in Oxyhämoglobinlösungen»[1]) habe ich Versuche beschrieben, die bei einer Temperatur von 34—35° und mit Lösungen angestellt waren, deren Hämoglobingehalt höchstens etwas über 8% betrug. Der Partiardruck des Sauerstoffs, bei welchem unter den oben bezeichneten Bedingungen der Temperatur und der Concentration der Lösung keine merkbare Dissociation des Oxyhämoglobins mehr stattfindet, wurde gleich 64 mm. Quecksilber gefunden, und es stimmte diese Druckgrenze auch nahezu mit jener — 62—63 mm. — überein, die sich aus Versuchen mit frischem defibrinirten Hundeblute, bei welchen die gleiche Temperatur eingehalten worden, ergeben hatte. — Es blieb zu untersuchen übrig, um wie viel sich die bezügliche Druckgrenze nach oben verschieben würde, wenn beide, sowohl die Temperatur, wie die Concentration der Lösung, noch weiter gesteigert würden, erstere bis zur Fiebertemperatur, letztere bis zu 16% und darüber.

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 12, S. 568—584.

Ich gebe hier die Resultate einer auf diese Fragen gerichteten Versuchsreihe[1]) ohne Weiteres in Form einer einfachen Tabelle, in welcher, wie früher, t, p_0, v_0 Temperatur, Sauerstoffdruck und Sauerstoffvolumen (red. auf 0° und 760 mm. Druck) vor, t', p_0', v_0' dieselben Beobachtungsgrössen nach dem Schütteln bedeuten, — der Druck ausgedrückt in Millimetern Quecksilber, das Volumen in Cubikcentimetern.

Versuchsnummer.	Oxyhämoglobin in Proconten.	t	t'	p_0	p_0'	$p_0'-p_0$	v_0	v_0'	$v_0'-v_0$
1	11,06	39,0°	38,5°	71,50	72,63	1,13	16,16	16,47	0,31
2	11,06	39,0°	38,5°	70,86	72,44	1,58	16,57	16,98	0,41
3	12,97	39,0°	38,3°	70,81	70,94	0,13	16,23	16,32	0,09
4	16,51	39,1°	38,5°	57,33	68,49	11,16	12,99	15,66	2,67
5	16,51	39,4°	38,9°	57,74	68,05	10,31	13,29	15,76	2,47
6	16,63	40,0°	39,25°	71,60	72,57	0,97	16,70	17,03	0,33
7	8,32	39,6°	39,1°	71,47	70,67	—0,80	17,04	16,89	—0,15
8	16,84	39,25°	38,7°	73,72	74,88	+1,16	16,97	17,32	+0,35
9	8,42	39,7°	39,1°	73,19	73,09	—0,10	17,17	17,18	0,01

In dieser Tabelle sieht man den Einfluss sowohl der weiter gesteigerten Temperatur, wie der erhöhten Concentration auf's Deutlichste. Die Druckgrenze der Dissociation ist bei Temperaturen, die um 39° herum schwanken, in allen Versuchen höher gerückt, als in den früheren Versuchsreihen; in den Versuchen 4 und 5, wo von einem niedrigen Partiardrucke ausgegangen ist, um mehr als 4, in den übrigen, wo der Anfangsdruck selber schon ein höherer war, um 7—10 mm.

Der Einfluss der Concentration aber ist aus den 4 letzten Versuchen besonders ersichtlich. Dieselben stellen 2 auf einander folgende Versuchspaare vor, deren jedes einzelne aus einem Versuche mit ganzer und einem solchen mit halber

[1]) Das Hahnfett, das während dieser neuen Versuchsreihe benutzt wurde, war aus viel weissem Wachse und wenig Knochenöl bereitet. Die damit bestrichenen Hähne liessen sich nur in Wasser von der Versuchstemperatur, dabei aber bequem und noch vollständig sicher bewegen.

Concentration besteht. Hier sieht man, wie die Lösung mit ganzer Concentration bei ungefähr der gleichen Temperatur beide Male noch Sauerstoff ausgiebt, wo die halbe Concentration dies nicht mehr thut[1]).

Jedenfalls geht aus der Gesammtzahl meiner nach dem neueren Verfahren angestellten Versuche das Eine mit aller Sicherheit hervor, dass ein ein für alle Male bestimmter, von der Menge unzersetzter Substanz unabhängiger Sauerstoffdruck als Grenze für die Dissociation des gelösten Oxyhämoglobins — also ein Analogon des in der That ein für alle Male bestimmten und von der Menge unzersetzt vorhandener Substanz unabhängigen Kohlensäuredruckes, den wir als Grenze für die Dissociation des festen kohlensauren Kalkes kennen — gar nicht existirt; wohl aber, dass innerhalb der Grenzen von Temperatur und Concentration[2]), welche allein für das Leben der Warmblüter in Betracht kommen können, jener Grenzdruck des Sauerstoffs kaum

---

[1]) Dabei könnte nur der Umstand auffallend erscheinen, dass 1. die halb concentrirten Lösungen nicht einmal so viel Sauerstoff ausgeben, wie dem Unterschiede der vorher und nachher absorbirten Mengen, also etwa 0,36 cbcm. (siehe diese Zeitschrift, Bd. 12, S. 581) entspricht, und dass 2. auch die Lösungen mit ganzer Concentration keine Sauerstoffmengen verlieren, welche diese Zahl überträfen. Da man indessen die Lösungen schon vor dem Einbringen in den Apparat jedes Mal unter gelindem Schütteln bis auf die Versuchstemperatur erwärmte, damit nicht etwa eine spätere Erwärmung das Volumen der ihren Behälter vollständig ausfüllenden Flüssigkeit vermehren und so den absperrenden Hahn lockern könnte, so ward offenbar schon durch diese Operation ein kleiner Theil der bei niedriger Temperatur absorbirten Sauerstoffmenge ausgetrieben; wahrscheinlich ward dadurch zugleich aber auch Veranlassung zu einiger Sauerstoffzehrung gegeben. Insofern nun — welches auch die Veranlassung eines vorherigen Sauerstoffverlustes gewesen sein mag — beide Lösungen, die ganz wie die halb concentrirte, der Möglichkeit eines solchen Verlustes in gleicher Weise ausgesetzt waren, bleibt doch die Thatsache, dass die ganz concentrirte Lösung in beiden Versuchen noch Sauerstoff abgab, die andere nicht, als factischer Ausdruck eines Zusammenhanges zwischen Concentration und Dissociation unbestreitbar.

[2]) Das Wort «Concentration» hier zugleich als Bezeichnung für den Hämoglobinreichthum des Blutes genommen.

erheblich mehr betragen dürfte, als 75 mm.[1]) Quecksilber, ein Werth, der einem Luftdrucke von 358 mm., also nicht ganz der Hälfte des normalen, entsprechen würde.

Ich habe die Höhengrenze, bis zu welcher das Leben von Warmblütern etwa noch möglich sei, lediglich mit Rücksicht auf dieses Verhalten des Blutfarbstoffs in meiner letzten Mittheilung auf etwa 5500 Meter geschätzt: ich glaube, dass ich mit dieser Schätzung in der That ungefähr das Richtige getroffen habe. Bedient man sich einer sehr abgekürzten Barometerformel, in welcher die Correcturen sowohl wegen des Wasserdampfes, wie wegen der nach oben abnehmenden Intensität der Schwere und der Temperatur unterlassen sind, so berechnet sich aus dem Drucke von 360 mm. die Höhe von 5961 Metern.

Zieht man nur die eine, allerdings sehr in die Augen fallende, Thatsache in Betracht, dass bei gleichbleibender Temperatur, aber zunehmender Concentration der Hämoglobinlösung der Partiardruck des Sauerstoffs der darüber stehenden Atmosphäre steigt, bei welchem noch Sauerstoff aus der Lösung in die letztere übertritt, so könnte es scheinen, als ob hoher Hämoglobinreichthum des Blutes gerade die Veranlassung zu reichlicherer Zersetzung sei und namentlich geeignet, die hypsometrische Grenze unseres Lebens vielmehr herabzudrücken, anstatt sie nach oben zu verschieben: Beobachtungen anderer Art aber und Betrachtungen, welche mit den neuesten Erfahrungen und Anschauungen der Physikochemiker[2]) über die Dissociation gelöster Moleküle im Zu-

[1]) Es ist bemerkenswerth, dass E. Herter bei seinen aërotonometrischen Versuchen mit dem arteriellen Blute grosser lebender Hunde zu einer Zahl gelangt, die mit der hier gegebenen nahezu übereinstimmt. Herter fand die Tension bei 39° gleich 78,7 mm. Quecksilber (diese Zeitschrift, Bd. 3, S. 98—104). Ueber die Concentration des von ihm verwandten Blutes ist leider nichts bekannt.

[2]) Zeitschrift für physikalische Chemie, Bd. 1, S. 631; Bd. 2, S. 36, 243, 343 und 504.

sammenhang stehen, vermögen zu zeigen, dass — neben Vergrösserung der Berührungszeit und der Berührungsfläche zwischen Blut und Einathmungsluft — eines der sichersten Mittel, die Athmung in höheren, verdünnteren Luftregionen zu ermöglichen, gerade die Erwerbung hämoglobinreicheren Blutes wäre.

Ich werde über die angedeuteten Experimentalbeobachtungen und über das Mittel zur Lösung des oben berührten — nur scheinbaren — Widerspruchs bei anderer Gelegenheit berichten und will hier nur eine Bemerkung anknüpfen, welche sich auf die Berechtigung und physiologische Verwerthung von physikalischen Experimenten, wie die obigen sind, überhaupt bezieht.

Der grösste Theil der in den beiden Mittheilungen über die Sauerstofftension etc., der früheren sowohl wie der vorliegenden, beschriebenen Versuche wurde mit Lösungen von Blutkrystallen, nicht mit Blut selber, angestellt. Nicht allein die Nothwendigkeit und die Leichtigkeit, den Hämoglobingehalt der angewandten Flüssigkeit in der mannigfachsten Weise zu variiren, auch der einfachere und immerhin klarer vorstellbare Zustand einer Lösung selber bewog mich zur Wahl der letzteren.

Einer einfachen wässrigen Lösung des Blutfarbstoffs gegenüber ist die Form, worin derselbe in den festen und organisirten Blutkörperchen enthalten sein mag, jedenfalls die complicirtere; mindestens ist sie für uns die dunklere; ja sie ist uns eigentlich ganz unbekannt, und wir haben nicht die geringste Berechtigung, von vornherein anzunehmen, der Körper werde sich in dieser Form gewissen Einflüssen gegenüber gerade so verhalten, wie in freier wässriger Lösung. Auf alle Fälle ist es angemessen und räthlich, das Verhalten einer solchen Substanz zunächst in ihrem freien und reinen Zustande zu prüfen und zwar unter verschiedenen leicht zu beherrschenden und zu variirenden Bedingungen. Erst wenn dieses geschehen und über jenes ein befriedigender Aufschluss gewonnen ist, dürfen entsprechende Versuche mit dem Stoffe in seiner minder

einfachen oder dunkleren Zustandsform — in unserem Falle in der Form eines in ein complicirtes, organisirtes Gebilde, das rothe Blutkörperchen, eingefügten Bausteines — wiederholt werden. Nur wenn die Versuche in dieser Folge ausgeführt werden, kann ja auch das etwaige Besondere im Verhalten der zweiten Form hervortreten und in die Augen fallen.

Werden endlich die Versuche mit dem complicirteren thierischen Materiale nicht mehr in gläsernen Apparaten allein, d. h. getrennt vom Organismus, sondern gar sogleich am lebenden Thiere selber angestellt, so treten abermals neue, durch das Hinzukommen mannigfacher anderer Bedingungen, sei es durch die Berührung mit der lebenden Gefässwand, sei es durch mechanische Einflüsse (erschwertes Athmen) herbeigeführte Complicationen ein, welche vielleicht im Stande sind, den reinen Gang der einen zu untersuchenden Erscheinung beträchtlich zu stören oder sein Bild bis zur Unkenntlichkeit zu verwischen.

Man wird also überhaupt von der Existenz und in gewissen Fällen auch von der besonderen Art der complicirenden Momente erst dadurch Kenntniss erlangen können, dass man bei Versuchen über Fragen, wie die in Rede stehende, den oben bezeichneten, freilich etwas umständlichen und mühseligen, Weg einschlägt.

Es könnte scheinen, als seien diese meine Bemerkungen völlig überflüssig, und namentlich mit Rücksicht auf das Blut wird man einwenden, dass die angedeutete Vorsicht gar nicht von Nöthen sei, da ja Blutkörperchen z. B. dasselbe Spectrum wie Oxyhämoglobinkrystalle zeigten und lebendes sauerstoffhaltiges Blut gegen Kohlenoxydgas sich völlig ebenso verhalte, wie in Wasser gelöstes sauerstoffhaltiges Hämoglobin. Allein eben gerade die Ergebnisse über die Sauerstofftension waren, wenn sie am Blute des lebenden Thieres gewonnen wurden, bisweilen andere, als die am todten Materiale gefundenen. Ich verweise in dieser Hinsicht nur auf die bekannten Versuche von Paul Bert und die von ihm Seite 691 seines grossen

Werkes[1]) gegebenen Curven; desgleichen auch auf die interessanten und auffallenden Versuchsresultate, welche erst unlängst Herr Christian Bohr[2]) «über die Gasspannungen im lebenden arteriellen Blute» veröffentlicht hat.

Tübingen, im September 1888.

---

[1]) La pression barométrique, recherches de physiologie expérimentale. Paris 1878.

[2]) Centralblatt für Physiologie, Bd. 1, S. 293—299.

Bemerkungen über künstlich dargestellte Eiweissnucleïne.

Von

Dr. Julius Pohl,
Assistenten des pharmakologischen Instituts zu Prag.

(Der Redaction zugegangen am 10. October 1888.)

Laut einer Mittheilung Leo Liebermann's[1]) «über das Nucleïn der Hefe und künstliche Darstellung eines Nucleins aus Eiweiss und Metaphosphorsäure» stimmt der aus Eiweisslösungen mit Metaphosphorsäure fällbare Eiweisskörper in den wichtigsten Eigenschaften mit natürlichen Nucleïnen überein. Unlöslich in Säuren, löst er sich in Alkalien; in saurer Lösung ist er von Magensaft nicht verdaulich; beim Uebergiessen mit verdünnter Säure gibt er Metaphosphorsäure an dieselbe ab; ferner liefert er eine schwer verbrennliche, sauer reagirende Kohle und enthält Phosphor von 2,58—2,67%.

Wenn auch durch die Mittheilung Liebermann's die wichtigsten Eigenthümlichkeiten jener Verbindung festgestellt sind, so glaube ich mich doch berechtigt, einige Beobachtungen mittheilen zu dürfen, welche bereits vor Erscheinen des Liebermann'schen Aufsatzes gewonnen waren und zur Bestätigung und Ergänzung derselben dienen dürften. Liebermann's künstliches Nucleïn war aus Eiereiweiss dargestellt. Da dieses ein Gemenge von mindestens zwei Eiweisskörpern, Globulin und Albumin, darstellt, diese beiden Körper aber durch Metaphosphorsäure gefällt werden, so

[1]) Ber. d. d. chem. Ges., Jahrg. 21, 1888, S. 598.

muss Liebermann's Präparat ein Gemenge von Globulinnucleïn mit Albuminnucleïn dargestellt haben, dessen Eigenschaften und Phosphorgehalt nicht ohne Weiteres auf einen einheitlichen chemischen Körper zu beziehen sind. Meine Versuche habe ich mit globulinfreiem Serumalbumin, sodann mit Fibrinhemialbumose angestellt.

I. Serumalbuminnucleïn.

Käufliches Blutalbumin wurde zur Ausfällung des Globulins mit Magnesiumsulfat gesättigt und filtrirt. Das klare Filtrat wurde mehr als dreissigfach verdünnt, mit einer gesättigten Lösung von Natriummetaphosphat, sodann mit verdünnter Salzsäure versetzt, der entstandene Niederschlag auf's Filter gebracht, schwefelsäurefrei gewaschen, dann in Alkali gelöst und in verdünnte Salzsäure filtrirt. Von dem neuerlich ausfallenden Eiweisskörper wurde die darüber stehende saure Flüssigkeit so rasch als möglich abgegossen, der Niederschlag selbst durch Decantation und Waschen auf dem Filter chlorfrei erhalten und schliesslich mit Alkohol und Aether gewaschen. Dieser Eiweisskörper zeigt neben den allgemeinen Eiweissreactionen noch die bereits von Liebermann hervorgehobenen Eigenschaften, die ihn als Nucleïn charakterisiren. Beachtenswerth ist sein Verhalten gegen Salze. Concentrirte Lösungen mancher Salze einbasischer und zweibasischer Säuren lösen ihn, so z. B. Chlornatrium, Chlorammonium, Kaliumnitrat, Natriumsulfat, Natriumphosphat. In mit Magnesiumsulfat gesättigten Albuminlösungen erzielt daher Metaphosphorsäure gar keinen Niederschlag. Ammonsulfat in gesättigter Lösung hält jedoch kein Albuminnucleïn in Lösung. Ich hebe hervor, dass diese Angaben durchaus nicht für alle Eiweissnucleïne gelten; so ist z. B. Eierglobulinnucleïn in gesättigter Magnesiumsulfatlösung unlöslich. Möglicherweise lässt sich dieses Verhalten gegenüber Salzen zur Trennung der verschiedenen Nucleïne benützen.

Zur Bestimmung des Phosphorsäure-Gehaltes wurde das bei 100° C. zur Gewichtsconstanz getrocknete Albuminnucleïn nach Liebig verascht, die Phosphorsäure mit Molybdän-

salpetersäure gefällt und schliesslich als Magnesiumpyrophosphat gewogen.

Analysen.

I.	1,4821 gr.	Albuminnucleïn gaben	0,2940 gr.	$Mg_2P_2O_7$	= 5,54 %	P.
II.	1,7112 »	» »	0,3373 »	»	= 5,50 »	»
III.	1,2529 »	» »	0,2547 »	»	= 5,67 »	»
IV.	1,9862 »	» »	0,4046 »	»	= 5,69 »	»

Um zu erfahren, ob die hier erhaltenen Phosphorwerthe der Ausdruck einer constanten chemischen Beziehung zwischen Eiweissmolekül und der Säure sind, habe ich ½ Jahr nach obigen Analysen neuerdings Serumalbuminnucleïn dargestellt, jedoch mit dem Unterschied, dass dasselbe nicht der wiederholten Einwirkung von Säure und Alkali ausgesetzt wurde. Dieses Präparat wurde zur Analyse V verwendet.

V. 1,8650 gr. Albuminnucleïn ergeben 0,3692 gr. $Mg_2P_2O_7$ = 5,53 % P.

Die Uebereinstimmung im P-Gehalt spricht in hohem Maasse dafür, dass sich das Albumin mit der Metaphosphorsäure nach constantem Verhältniss verbindet.

Der Höhe des Phosphorgehaltes nach steht das Serumalbuminnucleïn zwischen dem Kossel'schen[1]) Hefenucleïn (6,2 % P) und Bunge's[2]) eisenhaltigem Nucleïn des Eidotters, das 5,19 % P enthielt.

II. Hemialbumosenucleïne.

Gleich dem Globulin und Albumin geben auch die Hemialbumosen mit Metaphosphorsäure Niederschläge, die aber wie die Muttersubstanz in der Wärme löslich sind und beim Erkalten wieder ausfallen. Zu den Versuchen wurde das Witte'sche Pepton, bekanntlich grösstentheils aus Albumosen bestehend, benützt.

Da die Verdauungsalbumosen, wie die Untersuchungen von Kühne und seinen Schülern lehren, Gemenge verschie-

---

[1]) Kossel, Nucleïn der Hefe, Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. III, S. 284.
[2]) Bunge, Lehrbuch d. phys. Chemie, 1887, S. 93.

dener Eiweisskörper sind, so stellte ich zuvor einige Versuchsreihen an, um aus diesem Gemenge einzelne Eiweisskörper abzuscheiden. Ich benützte hierzu die Eigenschaft der Albumosen, sich mit Ammonsulfat aussalzen zu lassen. Aus Vorversuchen ging hervor, dass der grösste Theil gelöster Albumose fällt (Fraction A), wenn man 3 Theile Albumoselösung mit 7 Theilen neutraler, kalt gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt. Sättigt man das Filtrat hiervon mit Ammonsulfat, so erhält man einen neuerlichen Niederschlag (B); filtrirt man ab, so fällt aus dem salzgesättigten Filtrat auf Säurezusatz der Rest der Hemialbumose (C) aus. Durch diese Fractionirung liessen sich also mit einem einzigen Salz drei Körper aus dem Albumosengemenge gewinnen.

Die betreffenden Albumosen A, B, C wurden stets nach der ersten Fällung in Wasser gelöst, neuerlich mit Ammonsulfat gefällt, durch Dialyse gereinigt, mit Natriummetaphosphat und verdünnter Salzsäure gefällt. Diese Niederschläge wurden dann so wie das Albuminnucleïn behandelt. Auch die Humialbumosenucleïne zeigen die wichtigsten Nucleïneigenschaften: sie sind unlöslich in Säuren, löslich in Alkali, sie liefern beim Verbrennen eine intensiv sauer reagirende Kohle, die an Wasser Phosphorsäure abgibt. Ebenso wie bei den Albuminnucleïnen kann man den Hemialbumosenucleïnen durch Uebergiessen mit verdünnter Salzsäure (nach Liebermann) Phosphorsäure resp. Metaphosphorsäure entziehen. Kochen mit Alkali zersetzt sie rasch, so dass sich die Hemialbumose wieder als solche regenerirt. Es entsprechen also die Hemialbumosenucleïne vielleicht am meisten gewissen nativen Nucleïnen, die bei Spaltung mit Wasser oder Alkali[1]) peptonähnliche Stoffe liefern, da es nicht unwahrscheinlich ist, dass diese peptonartigen Eiweisskörper den Albumosen beizuzählen sind.

Da die Menge des Nucleïns aus der Fraction C zu klein war, um analysirt werden zu können, so habe ich nur in jenen von A und B den P-Gehalt bestimmt.

---

[1]) Kossel, l. c. u. Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. IV, S. 290; ferner Hoppe-Seyler, Handbuch d. phys.-chem. Analyse, 6. Aufl., S. 304.

Fraction A.

I. 1,1161 gr. H.-Nucleïn geben 0,1932 gr. $Mg_2P_2O_7$ = 4,83 % P.
II. 0,5593 » » » 0,0960 » » = 4,79 » »

Fraction B.

I. 1,1071 gr. B geben 0,2577 gr. $Mg_2P_2O_7$ = 6,49 % P.
II. 0,9670 » » » 0,2247 » » = 6,48 » »

Diese grosse Differenz des Phosphorgehalts bestätigt die von Kühne in zahlreichen Arbeiten vertretene Anschauung, dass der Name Hemialbumose nicht einem chemischen Individuum entspricht. Es ist nicht unmöglich, dass in der Bestimmung des Bindungsvermögens dieser einzelnen Albumosen gegenüber der Metaphosphorsäure ein werthvolles Merkmal zur Unterscheidung derselben gewonnen ist.

Da nach Miescher und Kossel eine Anzahl nativer Nucleïne neben eiweissartigen Spaltungsproducten Körper der Harnsäurereihe liefern, so versuchte ich die künstlichen Nucleïne mit Basen der Harnsäurereihe zu paaren. Meine Versuche blieben jedoch vorläufig erfolglos. Weder Xanthin, noch Hypoxanthin geben mit diesen Nucleïnen unlösliche Verbindungen, die etwa dem Miescher'schen Nucleïnprotamin entsprechen würden. Auch direct gibt Xanthin und Hypoxanthin mit Metaphosphorsäure keine unlösliche Verbindung. Dagegen gibt salzsaures Guanin mit Natriummetaphosphat einen in überschüssiger Säure unlöslichen Niederschlag, der in Alkalien löslich ist, somit äusserlich ein den nativen Nucleïnen ähnliches Verhalten zeigt. Es muss weiterer Untersuchung vorbehalten bleiben, sicherzustellen, ob in jenen bisher bekannten Nucleïnen, die bei der Spaltung neben eiweissartigen Spaltungsproducten Basen der Harnsäurereihe liefern (erste Gruppe Hoppe-Seyler's), nicht etwa Gemenge echter Eiweissnucleïne mit derartigen schwerlöslichen Metaphosphatverbindungen der Harnsäuregruppe vorliegen.

Uebrigens ist die Fällbarkeit organischer Basen durch Metaphosphorsäure nicht auf die Harnsäurereihe beschränkt.

Salzsaures Guanidin gibt mit Natriummetaphosphat einen dichten krystallinischen Niederschlag, der aus Drusen feinster Krystallnadeln besteht. In schwachen Säuren ist derselbe

nur theilweise löslich. Da die Möglichkeit vorlag, dass die Guanidinmetaphosphorsäureverbindung ein Salz oder eine andersartige Verbindung sei, so habe ich Phosphorbestimmungen derselben ausgeführt.

I. 0,41485 gr. Substanz geben 0,3318 gr. $Mg_2O_2P_7$ = 22,33 % P.
II. 0,8010 » » » 0,6418 » » = 22,37 » »

Da die Formel $CN_3H_5 . HPO_3$ 22,30 % P verlangt, so entscheiden die Analysen die obige Frage dahin, dass jene Verbindung das bisher noch nicht dargestellte metaphosphorsaure Guanidin ist.

Auch pflanzliche Basen verbinden sich mit Metaphosphorsäure. Salpetersaures Strychnin gibt mit neutralem Metaphosphat einen aus Büscheln von Krystallnadeln bestehenden weissen Niederschlag, der löslich ist in Essigsäure, Alkohol und Aether. Salzsaures Chinin scheidet sich auf Zusatz von metaphosphorsaurem Natron als weisser käsiger Niederschlag ab, der sich in einem Ueberschuss des metaphosphorsauren Natrons löst, jedoch nicht so leicht, wie das Strychninmetaphosphat. Auch dieser Niederschlag ist in Aether und Alkohol löslich.

Die zuletzt beschriebenen Verbindungen der Metaphosphorsäure mit Basen verhalten sich wie Salze derselben, sie können daher mit den künstlichen Nucleïnen nicht in eine Reihe gestellt werden, da diese gleich den natürlichen Nucleïnen ausgesprochenen, wenn auch schwachen Säurecharakter besitzen.

Prag, August 1888.

Ueber das Theophyllin, einen neuen Bestandtheil des Thees[1].

Von

A. Kossel.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)
(Der Redaction zugegangen am 26. October 1888.)

Vor einiger Zeit erhielt ich aus der Fabrik von Dr. Fr. Witte in Rostock eine grössere Menge eines Extractes, welches durch Ausziehen von Theeblättern mit Alkohol gewonnen war. Das Extract war zur Syrupsdicke eingedampft und der grösste Theil des Caffeïns durch Krystallisation entfernt. In dem mir zugesandten Product fand sich eine bisher unbekannte Base vor, für die ich den Namen Theophyllin vorschlage.

Darstellung des Theophyllins.

Das mit Wasser verdünnte Thee-Extract wurde zunächst durch Zusatz von Schwefelsäure von einer harzigen Substanz befreit, welche sich als klebrige Masse aus der sauren Flüssigkeit ausschied, der Niederschlag nach längerem Stehen abfiltrirt, das Filtrat mit Ammoniak bis zur stark alkalischen Reaction versetzt und sodann mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt. Der hierdurch erzeugte Niederschlag wurde nach 24 Stunden abfiltrirt und mit warmer Salpetersäure digerirt. Die beim Erkalten sich abscheidenden Silberdoppelsalze (des Adenins und des Hypoxanthins) wurden durch Filtration abgetrennt und das Filtrat mit Ammoniak übersättigt. Es bildete sich ein dunkelbrauner flockiger Niederschlag, welcher aus den Silberverbindungen des Xanthins und

[1] Ein Theil dieser Untersuchung wurde in den Berichten der deutschen chem. Gesellschaft, Bd. 21, S. 2164, vorläufig mitgetheilt.

des Theophyllins bestand. Diesen Niederschlag filtrirte ich nach einigem Stehen ab, schwemmte ihn in Wasser auf und zersetzte ihn sodann mit Schwefelwasserstoff. Es erwies sich als vortheilhaft, die Flüssigkeit vor dem Hindurchleiten des Schwefelwasserstoffs mit Salpetersäure anzusäuern, da sich bei neutraler oder alkalischer Reaction das Schwefelsilber häufig in so fein vertheilter Form abscheidet, dass es durch Filtration nicht von der Flüssigkeit zu trennen ist. Das Filtrat wurde eingedampft und blieb dann mehrere Stunden stehen. Zunächst schied sich eine geringe Menge einer amorphen oder undeutlich krystallinischen braunen Materie ab, die den Reactionen nach sich als Xanthin erwies. Das Xanthin ist im hiesigen Laboratorium von Herrn Dr. A. Baginsky als Bestandtheil des Thees aufgefunden[1]. Nach weiterem Eindampfen krystallisirten braun gefärbte Nadeln heraus, zuweilen auch säulenförmige Krystalle, die aus freiem Theophyllin bestanden. Die Mutterlauge enthielt noch beträchtliche Mengen der neuen Base, die in folgender Weise gewonnen wurden. Die Mutterlauge wurde mit salpetersaurem Quecksilberoxyd versetzt. In saurer Lösung entstand ein unbeträchtlicher, sehr dunkel gefärbter Niederschlag, welcher abfiltrirt und verworfen wurde. Das Filtrat wurde nun mit kohlensaurem Natron versetzt, bis die Reaction nur noch schwach sauer war, und dann bei sehr schwach saurer Reaction abwechselnd Quecksilberoxydnitrat und Natriumcarbonat hinzugefügt, so lange noch ein weisser Niederschlag entstand. Die hierdurch ausgefällte Quecksilberverbindung der neuen Base wurde gut ausgewaschen, in Wasser zertheilt und mit Schwefelwasserstoff zersetzt, beim Eindampfen der vom Schwefelquecksilber befreiten Flüssigkeit schied sich eine zweite fast farblose krystallisirte Portion des Theophyllins aus. Ein dritter Theil des Theophyllins war der Fällung mit Quecksilbernitrat entgangen und befand sich noch in der Lösung. Derselbe konnte durch Fällung mit Silbernitrat aus schwach ammoniakalischer Lösung gewonnen werden. Die Krystalle des Theophyllins wurden durch mehrfaches Umkrystallisiren gereinigt.

---

[1] Diese Zeitschrift, Bd. VIII, S. 395.

Eigenschaften und Zusammensetzung des Theophyllins.

Die Analysen der bei 110° getrockneten Base führten zu folgenden Resultaten:

I. 0,2122 gr. Subst. gaben 0,3622 gr. CO_2 und 0,0898 gr. H_2O.
II. 0,2550 gr. Subst. gaben 0,4360 gr. CO_2 und 0,1094 gr. H_2O.
III. 0,1048 gr. Subst. gaben 28,5 cbcm. Stickstoff bei 16,1° und 758 mm. Bar.

	Gefunden:			Berechnet für
	I.	II.	III.	$C_7H_8N_4O_2$:
C	46,55	46,63	—	46,67
H	4,70	4,77	—	4,44
N	—	—	31,66	31,11

Die Krystalle enthalten ein Molekül Krystallwasser.

0,2836 gr. lufttrockne Substanz verloren beim Erhitzen auf 110° 0,0265 gr.

	Gefunden:	Berechnet für $C_7H_8N_4O_2 + H_2O$:
Wasser-Verlust:	9,34	9,09

Die Zusammensetzung des Theophyllins stimmt nach diesen Analysen überein mit derjenigen des Theobromins und des Paraxanthins. Erstere Substanz ist in den Cacaobohnen, sowie in den Kolanüssen enthalten, letztere wurde von Thudichum[1]) und von Salomon[2]) im menschlichen Harn aufgefunden. Das Theophyllin ist mit keiner von beiden Substanzen identisch.

---

[1]) Annals of Chemical Medicine, London 1879, Vol. I, S. 160.

[2]) Zeitschrift f. klinische Medicin, Jub.-Heft. — Die erste Publication über diese Substanz, welche auch bereits die richtige Formel feststellte, war die von Thudichum. Die Veröffentlichung erfolgte aber in einem in Deutschland so wenig bekannten Journal, dass die Existenz dieser Base selbst denjenigen, welche sich speciell mit dieser Körperklasse beschäftigten, unbekannt blieb. Kurze Zeit darauf fand Salomon unabhängig von Thudichum diese Base ebenfalls im Harn auf, gab ihre Zusammensetzung übereinstimmend mit der Publication von Thudichum an, stellte zuerst viele ihrer interessantesten Eigenschaften fest. z. B. das Verhalten zu ammoniakalischer Silberlösung, zu Natronlauge, und gab ihr den Namen Paraxanthin. Nachträglich schlug Thudichum den Namen Urotheobromin vor. Ich glaube an dem Namen Paraxanthin festhalten zu müssen, weil es nicht nur der erste und der bekanntere, sondern auch der wohlklingendere ist.

Während das Theophyllin sehr leicht in deutlichen, makroskopisch sichtbaren Krystallen anschiesst, sind vom Theobromin nur mikroskopische Krystalle bekannt. Die Krystalle des Paraxanthins sind von Arzruni[1]) gemessen worden. Herr Dr. R. Scheibe hatte die dankenswerthe Güte, die Krystalle des Theophyllins im Vergleich mit den Angaben Arzruni's einer krystallographischen Untersuchung zu unterwerfen, und kam dabei zu folgendem Resultat:

«Die Krystalle treten nach vorliegendem Material als «dünne, schmale, bis 5 mm. lange, farblose Tafeln auf, ge«wöhnlich begrenzt durch die Krystallflächen b und m und «durch die gerundete zufällige Fläche e (Fig. 1). Der Quer«schnitt ist dann sechsseitig (Fig. 2). Selten tritt noch die «Form n und die Fläche c auf (Fig. 3).

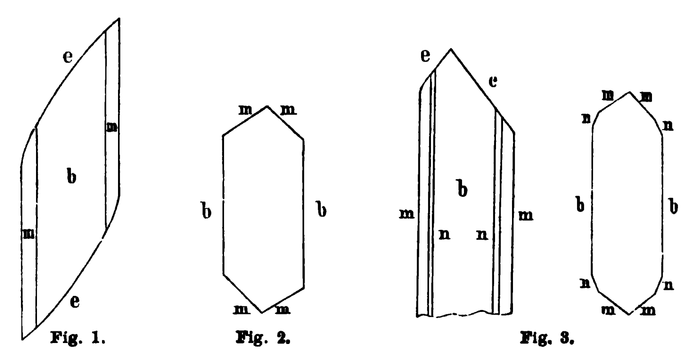


Fig. 1. Fig. 2. Fig. 3.

«Die Krystalle halte ich für monoklin, wobei sein würde:

$$\begin{aligned} b &= \infty P\breve{\infty} = (010) \\ m &= \infty P = (110) \\ n &= \infty P\breve{2} = (120) \\ c &= 0P = (001) \end{aligned}$$

«Die Messungen ergaben:

$$\begin{aligned} b : m &= (010) : (110) = 130^{\circ}\,41' \\ m : m &= (110) : (1\bar{1}0) = 98^{\circ}\,38' \\ b : n &= (010) : (120) = 149^{\circ}\,26' \quad \text{berechnet } 149^{\circ}\,49' \\ b : c &= (010) : (001) = 90^{\circ} \text{ ca.} \end{aligned}$$

«Die Neigung von Fläche c gegen die Kante (m : m) « = 126° 35′ (mikroskopische Messung).

---

[1]) Zeitschrift f. klinische Medicin, Jubel-Heft, Sep.-Abdr. S. 16.

«Die beobachteten Flächen genügen nicht zur vollstän-
«digen Berechnung der Constanten.

«Es ist: $a : b : c = 1{,}0705 : 1 : ?$
$\beta = 53^\circ\ 25'$

«Die Flächen m, n, c waren zu Messungen schlecht
«geeignet.

«Die Ebene der optischen Axen steht senkrecht auf der
«Symmetrieebene b und ist um 43° gegen die Vertikalaxe c
«nach hinten oben geneigt.

«Auf b tritt die Halbirende des stumpfen Axenwinkels
«aus, um welche die Doppelbrechung positiv ist. Der stumpfe
«Axenwinkel ist selbst im Adams-Schneider'schen Polari-
«sationsapparat (Brechung des Glases der Halbkugeln = 1,7782
«für Natriumlicht) nicht messbar, also recht gross.

«Durch b gesehen zeigen die Krystalle starken Dichrois-
«mus, es tritt ein Wechsel zwischen farblos und gelbbraun ein.

«Nach den vorliegenden Ergebnissen stimmen die Kry-
«stalle nicht mit den von Arzruni beschriebenen Krystallen
«des Paraxanthins überein.»

Das Theophyllin schmilzt bei 264°, das Theobromin sublimirt ohne vorher zu schmelzen[1]). Herr Salomon hatte die Güte, mir eine Probe des Paraxanthins zu übergeben. Der Schmelzpunkt dieses Körpers lag über 280°, ungefähr bei 284°. Das Theophyllin krystallisirt aus wässeriger Lösung in der Kälte leicht heraus. In warmem Wasser ist die Base leicht löslich, ebenso in sehr verdünnter Ammoniakflüssigkeit. In kaltem Alkohol löst sie sich schwer, leichter in heissem. Das Theophyllin verbindet sich mit Säuren. Das salzsaure Salz bleibt beim Eindampfen mit Salzsäure in gut krystallirtem Zustand zurück. Durch Wasser scheinen die Salze in Säure und Base zerlegt zu werden. Aus concentrirter salzsaurer Lösung scheidet sich auf Zusatz von Platinchlorid ein in vierseitigen Tafeln krystallisirendes Doppelsalz aus. Schwerer löslich ist das Golddoppelsalz, welches in büschelförmig grup-

[1]) Schmidt, Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 217, S. 286—306; Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 16, S. 1383.

pirten Nadeln anschiesst. Quecksilberoxydnitrat ruft in der verdünnten Lösung der reinen Base keinen Niederschlag hervor. Setzt man zu einer Lösung des Theophyllins eine wässerige Lösung von Quecksilberchlorid, so scheidet sich nach mehrstündigem Stehen eine in Nadeln krystallisirende Verbindung ab.

Das Paraxanthin bildet eine schwer lösliche Verbindung mit Natronhydrat, die sich auf Zusatz von wenig Natronlauge zu einer Lösung dieser Substanz ausscheidet und ein sehr wichtiges Mittel zur Erkennung dieser Base bildet. Die Reaction gelingt, wie ich bestätigen kann, mit dem Paraxanthin sehr leicht, mit dem Theophyllin konnte ich sie nicht erhalten. Herr Salomon untersuchte ebenfalls das Verhalten des Theophyllins zu dieser von ihm entdeckten Reaction und theilte mir gütigst mit, dass auch nach seinen Versuchen das Verhalten beider Basen gegen Natron ein durchaus verschiedenes sei.

Dass das Theophyllin ebenfalls eine Verbindung mit Natron bildet, konnte ich nachweisen. Diese Verbindung ist indess leicht löslich, ihre Darstellung gelingt nur in der Weise, dass man eine concentrirte ammoniakalische Lösung des Theophyllins mit Natronlauge versetzt. Alsdann scheiden sich büschelförmige Krystalle aus. Bringt man Krystalle des Theophyllins in Natronlauge, so werden sie opak, es gelingt unter Umständen, die Bildung nadelförmiger Krystalle zu beobachten, welche aus der Verbindung von Theophyllin mit Natron bestehen.

Ebenso wie das Theobromin und das Paraxanthin verbindet sich das Theophyllin mit Silberoxyd zu einem in Ammoniak schwer löslichen Körper. Diese Verbindung wurde bei der oben beschriebenen Darstellung benutzt. Auch das Caffeïn bildet eine entsprechende Silberverbindung, dieselbe ist aber in ammoniakhaltiger Flüssigkeit viel leichter löslich und bleibt bei dem Darstellungsverfahren in Lösung. Das Theophyllinsilber fällt amorph aus, wenn man die Base mit Silbernitrat in einer nicht zu starken ammoniakalischen Lösung zusammenbringt. Kocht man den amorphen Niederschlag mit

überschüssigem wässerigen Ammoniak, so löst er sich langsam auf und scheidet sich beim Erkalten in kleinen glänzenden Krystallen aus. In verdünnter Salpetersäure löst sich die Silberverbindung mit der grössten Leichtigkeit auf.

Die Verbindung hatte, nachdem sie bei 115° getrocknet war, die Zusammensetzung $(C_7H_7AgN_4O_2)_2 + H_2O$ oder $(C_7H_8N_4O_2)_2 + Ag_2O$, wie folgende Analysen beweisen.

1. 0,5277 gr. Subst. gaben 0,1929 gr. Ag.
2. 0,1986 gr. Subst. gaben 33 cbcm. Stickstoff bei 20,4° und 755 mm. Bar.

	Gefunden:		Berechnet für
	I.	II.	$(C_7H_7AgN_4O_2)_2 + H_2O$:
N	—	19,04	19,51
Ag	36,55	—	36,49

Wird diese Verbindung bei 130° getrocknet, so verliert sie noch Wasser und die Zusammensetzung entspricht nach anhaltendem Trocknen der Formel $C_7H_7AgN_4O_2$.

0,4279 gr. der bei 130° getrockneten Substanz gaben 0,1591 gr. Silber.

Gefunden:	Berechnet für $C_7H_7AgN_4O_2$:
37,18	37,63

Das Verhalten des Theophyllins gegen Silbersalze ist im Wesentlichen dem des Theobromins gleich.

Dampft man Theophyllin auf dem Wasserbad mit Salpetersäure ein, so hinterbleibt ein gelber Rückstand, welcher auf Zusatz von Natronlauge sich stärker gelb färbt, aber nicht roth wird, wie dies beim Xanthin der Fall ist. Setzt man indess der Salpetersäure Chlorwasser hinzu, wie es bei «Weidel's Reaction» geschieht, oder dampft man die Base mit Chlorwasser oder Bromwasser allein zur Trockne ein, so hinterbleibt ein scharlachrother Rückstand, der sich mit Ammoniak violett färbt und durch überschüssige Natronlauge entfärbt wird. Aehnlich verhält sich das Theobromin.

Einwirkung von Jodmethyl auf Theophyllin.

Der Umstand, dass das Theophyllin in seinen Eigenschaften dem Theobromin sehr ähnlich ist, legte mir die Vermuthung nahe, dass ihm eine ähnliche Constitution zukomme.

Das Theobromin wird bekanntlich, wie Strecker[1]) gezeigt hat, durch Erhitzen seiner Silberverbindung mit Jodmethyl in Caffeïn übergeführt. Das Theobromin ist durch die Untersuchungen von E. Fischer[2]) als Dimethylxanthin, das Caffeïn als Trimethylxanthin charakterisirt. Ich habe mir die Frage vorgelegt, ob das Theophyllin etwa als ein Dimethylxanthin oder als ein Monoäthylxanthin aufzufassen sei, und habe diese Frage dadurch entschieden, dass ich an das Theophyllin noch eine Methylgruppe anfügte und als Product dieser Reaction das Trimethylxanthin oder Caffeïn erhielt. Hierdurch ist die Constitution des Theophyllins als die eines Dimethylxanthins festgestellt.

Der Versuch wurde in folgender Weise ausgeführt: Etwa 1,5 gr. Theophyllinsilber, welches längere Zeit zwischen 130 und 140° getrocknet war, wurde mit der berechneten Menge Jodmethyl unter Zusatz von etwas Methylalkohol im geschlossenen Rohr 24 Stunden auf 100° erhitzt. Beim Erkalten des Rohrs zeigte sich eine zusammenhängende Masse von Jodsilber und auf dieser eine voluminöse weisse Krystallisation. Die Krystalle lösten sich in heissem Methylalkohol auf und schieden sich beim Erkalten wieder aus. Die Analyse derselben ergab, dass die Anfügung einer Methylgruppe stattgefunden hatte.

0,2678 gr. Substanz gaben 0,4849 gr. CO_2 und 0,1305 gr. H_2O.

	Gefunden:	Berechnet für $C_8H_{10}N_4O_2$:
C	49,38	49,48
H	5,41	5,45

Diese Substanz stimmte in ihren Eigenschaften mit dem Caffeïn überein. Eine Probe des künstlich dargestellten Caffeïns wurde mit natürlichem Caffeïn an demselben Thermometer erhitzt. Beide Substanzen schmolzen fast gleichzeitig zwischen 228 und 229° meines Thermometers. Der Schmelzpunkt des synthetischen Caffeïns wurde von E. Fischer[3]) bei 232—233° gefunden.

---

[1]) Ann. d. Chem., Bd. 118, S. 170.

[2]) Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 15, S. 455; Ann. d. Chem., Bd. 215, S. 253—320.

[3]) Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 215, S. 312.

Einwirkung von chlorsaurem Kali und Salzsäure auf Theophyllin.

Wenn auch durch den beschriebenen Versuch gezeigt ist, dass das Theophyllin als Dimethylxanthin aufzufassen ist, so ist die Constitution dieses Körpers dennoch nicht völlig aufgeklärt, da die Stellung der Methylgruppen noch unbekannt ist.

Man weiss durch die Untersuchungen von E. Fischer, wie die Methylgruppen in dem Theobromin vertheilt sind. E. Fischer zeigte zuerst[1]), dass das Theobromin bei der Einwirkung von chlorsaurem Kali und Salzsäure zerlegt wird in Monomethylalloxan und Monomethylharnstoff. Diese Thatsache beweist, dass die eine Methylgruppe im Alloxankern, die zweite im Harnstoffrest enthalten ist.

Der sogleich zu beschreibende Versuch sollte mir eine Entscheidung darüber liefern, ob das Theophyllin dieselbe Constitution besitzt, wie das Theobromin, oder ob die Methylgruppen in beiden Basen eine verschiedene Stellung inne haben.

2,5 gr. Theophyllin wurden entsprechend der von E. Fischer[2]) für die Oxydation des Theobromins gegebenen Vorschrift in 4 gr. Salzsäure vom spec. Gew. 1,19 und 7,5 cbcm. Wasser gelöst und hierzu allmälig 1,2 gr. chlorsaures Kali hinzugefügt. Es schied sich, ähnlich wie dies bei der Einwirkung des Chlors auf Caffeïn der Fall ist, im Anfang ein reichlicher weisser Niederschlag aus, der sich bei weiterem Zusatz von chlorsaurem Kali langsam wieder löste. Die angegebene Menge chlorsaures Kali reichte genau aus, um die völlige Lösung zu bewirken. Diese Operation erforderte etwa 1½ Stunden. Nachdem das überschüssige Chlor durch schweflige Säure entfernt war, leitete ich längere Zeit Schwefelwasserstoff in die Flüssigkeit und liess dieselbe 48 Stunden verschlossen stehen. Es hatte sich während dieser Zeit ein graugelber Niederschlag abgeschieden. Die Behandlung mit

---

[1]) Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 15, S. 455; Ann. d. Chem., Bd. 215, S. 304.

[2]) Ann. d. Chem., Bd. 215, S. 304.

Schwefelwasserstoff geschieht, um das durch die oxydirende Wirkung des Chlors gebildete substituirte Alloxan zu dem entsprechenden Alloxantin zu reduciren; letzteres ist leichter zu isoliren, da es schwerer löslich und beständiger ist. Der durch Schwefelwasserstoff gebildete Niederschlag bestand zum Theil aus Schwefel, zum Theil aus dem substituirten Alloxantin. Derselbe wurde abfiltrirt und zu wiederholten Malen mit Wasser ausgekocht. Das substituirte Alloxantin löste sich langsam auf und fiel beim Erkalten der filtrirten Flüssigkeit in zierlichen kleinen Krystallen aus. Die Ausbeute an diesen Krystallen betrug 0,7—0,8 gr. Dieselben waren in Wasser sehr schwer löslich und zeigten schon hierdurch, dass sie nicht mit dem analogen Oxydationsproduct des Theobromins, dem Dimethylalloxantin, identisch sind. Sie färbten sich an der Luft langsam roth, schnell bei der Einwirkung von Ammoniak. Mit Barytwasser trat Violettfärbung ein.

Die Analyse ergab folgende Zahlen:

0,2820 gr. Substanz gab 0,4332 gr. CO_2 und 0,1129 gr. H_2O.

	Gefunden:	Berechnet für $C_{12}H_{14}N_4O_8$:
C	41,89	42,11
H	4,44	4,09

Nach diesen Ergebnissen kann es nicht zweifelhaft sein, dass die aus dem Theophyllin entstandene Substanz identisch ist mit jenem Oxydationsproduct des Caffeïns, welches von Rochleder entdeckt und mit dem Namen Amalinsäure bezeichnet wurde[1]). Die Amalinsäure wird aus dem Caffeïn durch dasselbe Verfahren erhalten, wie aus dem Theophyllin. Sie entsteht durch Reduction des Dimethylalloxans und ist das Tetramethylalloxantin.

Das Alloxan, welches in unserm Fall zunächst aus dem Theophyllin gebildet wurde, ist also das Dimethylalloxan. Somit unterscheidet sich das Theophyllin hinsichtlich seiner Constitution dadurch vom Theobromin, dass erstere Base beide Methylgruppen im Alloxankern enthält. Das Verhält-

---

[1]) Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 71, S. 9.

niss beider zu einander wird durch folgende Formeln veranschaulicht:

```
        CH3                         CH3
       /                           /
      N —— CH     CH3             N —— CH
     /           /               /      ‖
CO <         C — N          CO <        C — NH
     \       |     > CO          \      |     > CO
      N —— C = C                  N —— C = N
                                   \
                                    CH3
```

Theobromin   Theophyllin.

Vielleicht gelingt es, das Theophyllin in anderen Pflanzen in grösserer Menge aufzufinden. Die aus dem Thee erhaltene Ausbeute ist eine sehr geringe, freilich sind die Verluste bei der Darstellung vorläufig noch nicht zu übersehen.

Als Strecker die ersten Versuche zur Synthese des Theobromins machte, erhielt er durch die Einwirkung von Jodmethyl auf Xanthinsilber eine Substanz, welche sich mit dem Theobromin isomer erwies, die aber in ihren Eigenschaften von dieser Base abwich. Strecker hat die von ihm synthetisch erhaltene Substanz nicht beschrieben. Es wäre denkbar, dass es dieser von mir gefundene Körper ist, den Strecker schon vor nahezu 30 Jahren auf künstlichem Wege dargestellt hat.

Ueber Farbstoffe in den Muskeln[1]).

Von

Ludwig Levy.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut in Strassburg.)

(Der Redaction zugegangen am 15. August 1888.)

Die Ursache der rothen Färbung der Muskeln ist in den letzten Jahrzehnten mehrfach eingehender untersucht worden.

Kölliker[2]) war der Erste, der die rothe Farbe der Muskeln einem den Muskeln eigenthümlichen Farbstoff zuschrieb.

Valenciennes und Frémy[3]) fanden in den Muskeln des Lachses einen eigenthümlichen Farbstoff, den sie acide salmonique nannten.

Denselben Farbstoff untersuchten später Krukenberg und Wagner[4]) und bezeichneten ihn als Rodophan.

Die weitere Geschichte der Untersuchungen des Muskelfarbstoffs hat sich an die Arbeiten von Hoppe-Seyler u. A. über den Farbstoff des Blutes und die Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Welcker'schen Methode zur Bestimmung der Blutmenge angeschlossen.

Kühne[5]) wies die Identität von Blut- und Muskelfarbstoff nach.

---

[1]) Nach der Dissertation, betitelt: Ueber den Farbstoff der Muskeln. Strassburg 1888.

[2]) Kölliker, Mikroskopische Anatomie, 1850, II, Bd. I, S. 248.

[3]) Frémy et Valenciennes, Rech. sur la compos. des muscles dans la série des animaux. Journ. de Pharm., 1855.

[4]) Krukenberg und Wagner, Ueber Besonderheiten des chemischen Baues contractiler Gewebe. Zeitschr. f. Biolog., Bd XXI, S. 25, 1885.

[5]) Kühne, Ueber den Farbstoff der Muskeln. Virchow's Archiv, 1865, Bd. XXXIII, S. 79; s. auch Kühne, Lehrb. der phys. Chemie, 1868, S. 288.

Im Anschluss an die Welcker'sche Methode der Bestimmung entwickelte sich eine Diskussion über die Herkunft und die Bedeutung des Muskelfarbstoffes, an der sich Panum[1]), Kühne[2]), Gscheidlen[3]), Lankester[4]), Brozéit[5]), Ranke[6]), Ranvier[7]), Meyer[8]) betheiligten.

Neue Beobachtungen über den Farbstoff der Muskeln wurden von Struve[9]) publicirt. Er behandelte verschiedene Fleischsorten mit Aether. Der Aether, welcher sich gelb färbte, wurde stark concentrirt und zeigte ein Spektrum, welches mit dem des Oxyhämoglobins übereinstimmt, sich aber von demselben dadurch unterscheidet, dass es durch die Einwirkung weder von Schwefelkalimetallen, noch von Säuren den Veränderungen unterworfen ist, wie sie das Hämoglobin zeigt.

---

[1]) Panum, Experimentelle Untersuchungen über die Mengenverhältnisse des Blutes und seiner Bestandtheile. Virchow's Archiv, 1864, Bd. XXIX, S. 24.

[2]) Kühne, l. c.; ferner Zur Geschichte des Hämoglobins der Muskeln. Unters. aus dem physiol. Instit. zu Heidelberg, Bd. II, S. 133, 1882.

[3]) Gscheidlen, Bemerkungen zu der Welcker'schen Methode der Blutbestimmung in den Organen einiger Säugethiere. Pflüger's Archiv, Bd. VII, S. 530, 1873; ausserdem Studien über die Blutmenge und ihre Vertheilung im Thierkörper. Unters. aus dem physiol. Labor. zu Würzburg, 1869.

[4]) Lankester, Spectroscopie examination of animal substances. Journ. of anat. and physiol., 1869; ferner Ueber das Vorkommen von Hämoglobin in den Muskeln der Mollusken und die Verbreitung derselben in den lebendigen Organismen. Pflüger's Archiv, Bd. IV, S. 315, 1871.

[5]) Brozéit, Bestimmung der absoluten Blutmenge im Thierkörper nach einer von Prof. v. Wittich vorgeschlagenen Methode. Arch. f. Physiol., 1870, Bd. III, S. 352.

[6]) Ranke, Die Blutvertheilung und der Thätigkeitswechsel der Organe. Leipzig 1871.

[7]) Ranvier, Note sur les vaisseaux sanguins et la circulation dans les muscles rouges. Gaz. méd. de Paris, 1874. S. 43; ferner Propriétés et structures différentes des muscles blancs chez les lapins et les raies. Gaz. méd. de Paris, 1873, S. 644.

[8]) Meyer, Ernst, Ueber rothe und blasse quergestreifte Muskeln. Archiv f. Anat. u. Physiol., 1875, S. 215.

[9]) Struve, Ueber das Vorkommen eines neuen Farbstoffes etc. Berichte der deutschen chem. Gesellsch., Bd. IX, S. 623, 1876.

Allein Struve hat ausser dieser ersten nie wieder eine weitere Mittheilung über den von ihm gefundenen Körper gemacht, und obschon er den Wunsch aussprach, dass seine Entdeckung von physiologischer Seite weiter verfolgt werden möge, ist nichts darüber bekannt geworden bis 1884. Von diesem Jahre an wurde von MacMunn[1]) eine Reihe von Untersuchungen über Farbstoffe der Muskeln publicirt, die wir jetzt etwas näher in's Auge fassen wollen.

Zunächst schildert MacMunn in einer vorläufigen Mittheilung einen von ihm mittels des Spektroskops in den Muskeln entdeckten neuen Farbstoff und eine Klasse von neuen Farbstoffen, die er in den Geweben und Organen von Wirbellosen und Wirbelthieren gefunden hatte, zu denen er den obenerwähnten Muskelfarbstoff rechnet. Er nennt die Klasse von Farbstoffen Histohämatine, den neuen Muskelfarbstoff Myohämatin.

Im Jahre 1886 veröffentlichte MacMunn[2]) eine grössere Abhandlung, in welcher er über seine Untersuchungen über Myohämatin und Histohämatine berichtete. Er untersuchte die betreffenden Gewebsbestandtheile, deren Farbstoff er kennen lernen wollte, in einem Compressorium, das die Herstellung einer beliebig dicken Schicht ermöglichte, beleuchtete sie vermittelst eines Condensators und beobachtete mit einem binocularen Mikroskop, dessen eine Hälfte zur Aufsuchung der Gewebsbestandtheile diente, während die andere mit einem Spektralocular versehen war und also das Spektrum lieferte. Auf diese Weise untersuchte er die Gewebe und Organe einer grossen Anzahl von Wirbellosen und Wirbelthieren. Unter den ersteren befanden sich verschiedene Mollusken, Echinodermen, Arthropoden und einige Würmer; von den Wirbelthieren lagen ihm verschiedene Reptilien, Amphibien, Fische, Vögel und Säugethiere zur Untersuchung vor. Bei der Untersuchung aller dieser Thiere fand er, dass die Gewebe und Organe derselben verschiedene Absorptionsspektra hervor-

---

[1]) MacMunn, Proc. Physiol. Soc., 1884, No. IV, December 13.

[2]) MacMunn, Researches on Myohaem. and the Histohaem. Philos. Transact. of the royal soc., Part. I, 1886.

brachten, welche er ebensovielen besonderen Farbstoffen zuschrieb. Diese Farbstoffe nannte er Histohämatine.

Er fand, dass die Spektra dieser Farbstoffe eine grosse Aehnlichkeit mit dem Spektrum des Hämochromogen zeigten; er glaubte, dass sie mit dem Hämochromogen verwandt seien. Er fand auch bei manchen seiner Objekte wirkliche Hämochromogenspektra, bei andern wurden die Histohämatinspektra durch reducirende Agentien, wie Schwefelammonium, erst hervorgebracht oder verstärkt. Dieser letztere Umstand, verbunden mit der Beobachtung, dass durch oxydirende Substanzen die Spektra abgeschwächt und zum Verschwinden gebracht werden, führten ihn zur Aufstellung einer Hypothese über die Function der Histohämatine. Er glaubt, dass diese Farbstoffe der Respiration der Organe vorstehen, und nannte sie deshalb respiratorische Pigmente.

MacMunn unterzog ferner die Muskeln einer grossen Anzahl von Wirbellosen und Wirbelthieren der mikrospektroskopischen Untersuchung. Viele derselben sandten ein eigenthümliches Spektrum aus. Dies Spektrum bezog er auf einen besonderen Farbstoff, welchen er Myohämatin nannte. Das Myohämatinspektrum war bei manchen seiner Objekte nur schwach entwickelt, bei anderen, z. B. beim Laubfrosch, war es gar nicht vorhanden; sobald man aber eine reducirende Substanz, nämlich Schwefelammonium, hinzubrachte, so trat das Spektrum sehr deutlich hervor.

Bei Einwirkung von Sauerstoff wurden die Absorptionsstreifen schwächer; Säuren brachten sie ganz zum Verschwinden; starke Lösungen von Alkalien veränderten sie in eigenthümlicher Weise.

In den Muskeln einiger Insekten, sowie in einer Lösung, welche durch Verdauung von blutfreien Säugethiermuskeln mit Pepsin und Wasser erhalten wurde, zeigte sich das Myohämatinspektrum etwas verändert. MacMunn schreibt dies einer Modification des Myohämatin zu. Dies modificirte Myohämatinspektrum zeigte eine grosse Aehnlichkeit mit dem Spektrum des Hämochromogen, von dem es sich dadurch

unterscheidet, dass die Absorptionsstreifen desselben näher dem violetten Ende des Spektrums stehen.

MacMunn versuchte auf verschiedene Weise sein Myohämatin zu isoliren; dies gelang ihm jedoch nicht. Nur durch die Einwirkung von Pepsin erhielt er die obenerwähnte, dem Hämochromogen in ihren spektroskopischen Eigenschaften ähnliche Modification des Myohämatin. Die Absorptionsstreifen derselben wurden durch Zusatz von Natronlauge zum Verschwinden gebracht, nach Anwendung von Schwefelammonium traten sie dann wieder hervor.

In einer späteren Arbeit berichtete MacMunn[1]) über weitere Untersuchungen des Myohämatin. Es war ihm gelungen, durch eine eigenthümliche Behandlungsweise von Muskeln verschiedener Wirbelthiere, besonders des Brustmuskels von Tauben, Lösungen des von ihm entdeckten Farbstoffs zu erhalten und denselben in diesen Lösungen spektroskopisch auf seine Reactionen zu untersuchen. Die Methoden waren zweierlei Art.

Einmal behandelte er die zerkleinerten Brustmuskeln durch Entbluten getödteter Tauben, nachdem er sie mit Wasser ausgewaschen und dann ausgepresst hatte, mit Kochsalz und fügte dann Wasser bis zur Stärke einer 10°/₀ ClNa-Lösung hinzu. Die Lösung wurde dann ausgepresst und unter Druck filtrirt. Er erhielt ein röthlichgelbes Muskelextrakt, welches den einen, starken, schmalen Myoämatinstreifen zeigte. Im Uebrigen zeigte jedoch das Spektrum durchaus keine Aehnlichkeit mit seinen früheren Myohämatinspektren, was er auf die Beimischung von Hämoglobin schob, da er durch Zusatz von Schwefelammonium den breiten Streifen des Hämoglobin hervorbringen konnte.

In einigen Fällen gelang es ihm durch Extraktion des mit Alkohol gefällten Muskelextrakts vermittelst alkoholischer Kalilauge eine Lösung zu gewinnen, die ein dem des alkalischen Hämatin ähnliches Spektrum aussandte. Dies Spektrum

---

[1]) MacMunn, Further observations on Myohaematin and the Histohaematins. Journ. of physiol., Vol. VIII, No. 2.

konnte er dann durch Hinzufügung von Schwefelammonium zu der Substanz in ein anderes verwandeln, das sich von dem Myohämatinspektrum dadurch unterschied, dass die Streifen näher dem Roth standen.

Es gelang ihm ferner, durch Hinzufügung von starker Schwefelsäure zu dem durch Alkohol coagulirten Muskelfiltrat einen Körper zu erhalten, dessen Spektrum mit dem des Hämatoporphyrin ziemlich übereinstimmte.

Eine zweite Methode zur Isolirung seines Myohämatins wandte MacMunn an, indem er auf die Untersuchung von Struve zurückging. Er behandelte ebenfalls Fleisch mit Aether, wandte aber seine Aufmerksamkeit nicht dem Aether, sondern dem bei Einwirkung des Aethers entstehenden Muskelsaft zu. Bei der Behandlung eines Ochsenherzens mit Aether erhielt er nach zweitägiger Aethereinwirkung von dem Muskelsaft ein Spektrum, in welchem Myohämatin- und Methämoglobinstreifen gemischt waren. Nach Einwirkung von Schwefelammonium entwickelte sich das Spektrum des Hämoglobin mit dem des Myohämatin gemischt. MacMunn fand jedoch beim Arbeiten mit dem Muskelextrakt vom Ochsenherzen, dass die Beobachtungen durch reichliche Beimengung von Hämoglobin gestört wurden, und zog es deshalb vor, die weiteren Untersuchungen an den Muskeln zu machen, in denen nach seiner Ansicht das Myohämatin der einzige Farbstoff ist, nämlich am Brustmuskel der Tauben.

Durch Behandlung mit Aether entzog MacMunn den Brustmuskeln entbluteter Tauben einen röthlich gelben Muskelsaft, welcher das Spektrum des modificirten Myohämatin zeigte. Dies Spektrum konnte durch einstündiges Durchleiten eines Stromes von Kohlensäure oder von Sauerstoff durch den Muskelsaft nicht verändert werden. Zusatz von Schwefelammonium verstärkte die Streifen des Myohämatin. Dieses verstärkte Spektrum konnte ebenfalls durch Einwirkung von Sauerstoff nicht verändert werden, und hierauf stützte MacMunn die Behauptung, dass das Myohämatin nicht wie das Hämoglobin eine lockere Verbindung mit dem Sauerstoff eingehe.

Der Muskelsaft gab beim Zusatz von absolutem Alkohol, von Essigsäure und beim Erhitzen einen Niederschlag, der sich durch seine Reaktionen als eine Eiweisssubstanz charakterisirt. Ausserdem enthielt das durch absoluten Alkohol gefällte Coagulum das spektroskopisch nachweisbare Myohämatin und zeigte dieselben optischen Reaktionen wie der Muskelsaft selbst. Es gelang ihm nicht, aus dem Coagulum den Farbstoff zu isoliren, und er schloss hieraus, dass das Myohämatin mit einer Proteïnsubstanz eng verbunden, dass es eine gefärbte Proteïnsubstanz sei.

Ferner fand MacMunn durch Behandlung mit Aether Myohämatin in den rothen Muskeln des Kaninchens, Spuren des Farbstoffs in den weissen Muskeln desselben Thieres.

Um die Zersetzungsprodukte des Myohämatin zu erhalten, behandelte er die durch Alkohol gefällten Coagula mit verschiedenen Reagentien. Er erhielt durch Zusatz von alkoholischer Kali- oder Natronlauge kein alkalisches Hämatin. Durch Behandlung mit schwefelsäurehaltigem Alkohol dagegen erhielt er eine Art von saurem Hämatin. Durch Einwirkung von starker Schwefelsäure erhielt er Hämatoporphyrin. MacMunn glaubt bewiesen zu haben, dass das Myohämatin und die Histohämatine nicht Zersetzungsprodukte des Hämoglobins, sondern Muttersubstanzen von grosser physiologischer Wichtigkeit seien.

Die Aehnlichkeit des modificirten Myohämatins mit dem Hämochromogen in seinem spektroskopischen Verhalten findet er auffallend, constatirt jedoch einige Verschiedenheiten in der Stärke und Stellung der Streifen.

Eine Bestätigung von anderer Seite haben die Angaben von MacMunn, soweit die Litteratur verfolgt werden konnte, nicht gefunden.

MacMunn hat also in den Muskeln vieler Thiere einen Körper gefunden, welcher durch Absorptionsstreifen von bestimmter Stellung im Spektrum charakterisirt ist. Er hat diesen Körper Myohämatin genannt und glaubte ihn in zwei verschiedenen Zuständen kennen gelernt zu haben. Er glaubte nämlich, dass zwei etwas verschiedene Spektra von dem Myo-

hämatin herrührten. Jedoch konnte der Körper nur in der einen Erscheinungsform, welche modificirtes Myohämatin genannt wurde, aus dem Muskel abgetrennt und in Lösungen erhalten werden. Nur in dieser Gestalt konnte er also auf sein chemisches und spektroskopisches Verhalten genauer untersucht werden. Deshalb verdient das modificirte Myohämatin vor den anderen Berücksichtigung. Es zeichnete sich sein Spektrum durch eine auffallende Aehnlichkeit mit dem Spektrum des Hämochromogens aus. MacMunn war diese Aehnlichkeit nicht entgangen. Er glaubte jedoch aus gewissen Gründen schliessen zu dürfen, dass Myohämatin und Hämochromogen nicht identisch seien, sondern dass das erstere einen eigenen, mit bestimmten Funktionen begabten Muskelfarbstoff vorstelle.

Es dürfte hier geboten sein, die Begründung dieser Annahme zu prüfen. Es ist dann unsere Aufgabe, zu untersuchen, wo und unter welchen Verhältnissen das Myohämatin zuerst auftritt, dasselbe möglichst in einer angreifbaren Form zu isoliren, sein Verhalten gegen Reagentien festzustellen und spektroskopisch zu verfolgen, seine Zersetzungsprodukte kennen zu lernen und somit seine Stellung zu den bis jetzt bekannten, im Thierkörper vorkommenden Farbstoffen zu ermitteln.

Zur Lösung dieser Aufgabe schien es nicht vortheilhaft, die Untersuchungen, wie MacMunn es gethan hatte, mit einem Mikrospektroskop vorzunehmen; es war ja möglich, das Myohämatin nach den von MacMunn angegebenen Methoden in grösseren Mengen in Lösung zu erhalten, so dass die Beobachtungen mit dem Browning'schen Taschenspektroskop à vision directe und mit grösseren, zu genauen Messungen geeigneten Instrumenten ausgeführt werden konnten. Für die folgenden Untersuchungen benutzte ich erstens ein Taschenspektroskop aus der Werkstätte von Browning in bekannter Einrichtung und zweitens eine Combination grösserer Instrumente, welche in folgender Weise angeordnet waren.

Das Licht trat durch einen Spalt, dessen Schneiden mit Mikrometerschrauben bewegt und genau eingestellt werden konnten, dann durch eine Collimatorlinse von grossem Fokus.

Es wurde dann in einem grossen Steinheil'schen Prisma aus Flintglas in das Spektrum zerlegt und dieses letztere durch ein Fernrohr, dessen sämmtliche Linsen aus Quarz gefertigt sind, beobachtet. Eine photographirte Skala, beleuchtet durch eine Petroleumlampe, wurde in üblicher Weise durch die hintere Prismafläche, welche als Spiegel diente, in die Axe des Fernrohrs reflektirt und erschien im Gesichtsfeld horizontal in dem gleichfalls horizontal entworfenen Spektrum des zerstreuten Tageslichts. Die Spektrallinien D, E und b und ihre Stellung in der Skala dienten zur Grundlage für die Berechnung der mit der Skala beobachteten Stellung der Absorptionsstreifen auf die entsprechenden Wellenlängen. Alle Beobachtungen wurden im reflektirten Tageslicht, und alle vorläufigen Untersuchungen über das Vorhandensein von Absorptionsstreifen überhaupt mit dem Taschenspektroskop ausgeführt.

Es galt zunächst die Art des Auftretens des Myohämatins zu untersuchen. Zu dem Zwecke wurden zwei Tauben durch Enthaupten getödtet und ihr Blut durch Auslaufenlassen aus den Halsgefässen entfernt. Die Brustmuskeln wurden dann so präparirt, dass die in die Muskeln eintretenden Blutgefässe erst nach Loslösung der übrigen Muskelmasse durchschnitten wurden und also die Muskeln nicht mehr durch das austretende Blut verunreinigt wurden. Die Muskeln wurden dann in kleine Stücke geschnitten, gehackt und mit Wasser sorgfältig ausgewaschen und ausgepresst. Dann wurde die von dem einen Thier herrührende Portion mit wenig Wasser übergossen in eine mit eingeschliffenem Glaspfropfen verschliessbare Flasche gebracht. Die andere Portion wurde mit ClNa in einer Reibschale zerrieben, dazu nach und nach Wasser hinzugefügt, so dass eine 10% ClNa-Lösung entstand, und diese Masse ebenfalls in eine verschliessbare Flasche gebracht. Beide Portionen wurden sofort mit dem Taschenspektroskop im reflektirten Licht untersucht. Die Muskelmassen lieferten ein sehr schönes klares Oxyhämoglobinspektrum. Am folgenden Tage jedoch war in den beiden geschilderten Portionen eine schon äusserlich durch die Farbe kenntliche Theilung der Muskelmassen in drei Schichten ein-

getreten, die an den Grenzen allmählich in einander übergingen. Spektroskopisch im reflektirten Lichte untersucht lieferte die erste hellrothe Schicht das Spektrum des Oxyhämoglobin, die darunter lagernde dunkelrothe den breiten Streifen des Hämoglobin. Die unterste eigenthümlich hellroth mit einem Stich in's Gelbe gefärbte Schicht entwarf ein Spektrum, dessen Absorptionsstreifen demjenigen des Myohämatin von MacMunn entsprachen. Im Lauf der folgenden Tage nahm die unterste das Myohämatin enthaltende Schicht auf Kosten der darüber liegenden immer mehr zu; jedoch blieb an der oberen Grenze, der unteren Grenze des Aethers resp. der in der Flasche enthaltenen Luft entsprechend, nach lange eine Schicht bestehen, welche nur Oxyhämoglobin enthielt.

In derselben Weise, wie sie eben von den Muskeln der Taube geschildert ist, wurden die Muskeln mehrerer Kaninchen, welche durch Blutentziehung getödtet waren, wenige Stunden nach dem Tode behandelt. Es wurde bei diesen Muskelmassen die gleiche Aufeinanderfolge der spektroskopischen Erscheinungen wie bei den von den Tauben gewonnenen beobachtet; es zeigten sich zuerst nur die Streifen des Oxyhämoglobin, welche nach mehreren Tagen aus den unteren Schichten verschwanden, indem die Absorptionsstreifen des Myohämatin an ihre Stelle traten. Es lieferten jedoch die Muskeln dieser Thiere, welche nachgewiesenermassen nur geringe Mengen von Farbstoff enthalten, ein sehr schwaches Myohämatinspektrum.

Dagegen wurde in den Beobachtungen, welche an den Muskeln eines durch Blutentziehung getödteten Hundes angestellt wurden, ein vortreffliches Seitenstück zu dem oben von den Taubenmuskeln mitgetheilten gewonnen. Die Muskeln wurden, drei Stunden nach dem Tode des Thieres, in der oben geschilderten Weise vorbereitet, in drei Portionen getheilt und hiervon zwei mit wenig Wasser und Aether, eine mit ClNa und Wasser behandelt. Bereits nach zwei Stunden war in den mit Aether behandelten Muskelmassen die Theilung in eine obere Oxyhämoglobin und eine untere Hämoglobin enthaltende Schicht scharf ausgesprochen. Die mit ClNa versetzte Partie enthielt fast nur noch Hämoglobin. In der Folge ent-

wickelten sich die Erscheinungen ebenso weiter, wie sie oben von den Taubenmuskeln geschildert sind.

Es wurde ferner ein Ochsenherz, nachdem es auf die oben angegebene Weise vorbereitet war, in drei Portionen getheilt und hiervon zwei mit Aether und eine mit ClNa behandelt. Auch hier konnten die oben geschilderten Beobachtungen wiederholt werden. Es waren jedoch in diesen Muskelmassen sehr reichliche Mengen von Hämoglobin enthalten, welche nur langsam und nur in geringem Masse durch das Myohämatin ersetzt wurden.

Um die Frage zu entscheiden, ob die nach dem Absterben im Thierkörper eintretenden Veränderungen einen Einfluss auf das Auftreten von Myohämatin ausüben, wurden an Tauben vergleichende Untersuchungen angestellt. Es wurden zweimal die Brustmuskeln von je zwei Tauben nach der oben erwähnten Methode vorbereitet und mit Wasser und Aether behandelt, das eine Mal sofort nach der Tödtung der Thiere, das andere Mal nachdem die Thiere nach dem Tode achtzehn Stunden hindurch in einem mässig kühlen Raume gelegen hatten. Es konnte jedoch kein Unterschied der in der Folge beobachteten Erscheinungen constatirt werden; in beiden Fällen wurden nur die oben berichteten Veränderungen gefunden.

Bei allen den besprochenen Muskelgemengen, mochten sie nun mit Aether oder mit ClNa behandelt sein, mochten sie sofort nach dem Tode oder mehrere Stunden nach demselben in Angriff genommen sein, stellten sich nach einiger Zeit deutliche Spuren von Fäulniss ein. Es entwickelten sich Gasblasen, es war besonders bei den mit ClNa behandelten Portionen ein fauliger Geruch bemerklich, und es konnten Fäulnissorganismen nachgewiesen werden. Durch die Fäulniss wurden die Muskeln in ihrem spektroskopischen Verhalten mehr oder weniger verändert. Die wesentlichsten Veränderungen zeigten die mit ClNa behandelten Portionen. In diesen ging die Fäulniss sehr stürmisch vor sich. Es bildete sich in demselben bald Hämatin in grosser Menge aus, und vom Hämatin sowohl als vom Myohämatin waren nur noch Spuren spektroskopisch nachzuweisen.

In den mit Aether behandelten Portionen ging die Fäulniss weniger stürmisch vor sich, und dies schien das Auftreten resp. die Bildung von Myohämatin zu begünstigen. Bei einigen Portionen, bei welchen die Fäulniss, ohne allzu heftig zu verlaufen, doch intensiv wirkte, entfärbten sich sowohl die Muskeln als auch die umgebende Flüssigkeit mehr oder weniger stark und lieferten dann ein immer deutlicheres und kräftigeres Myohämatinspektrum.

Um das Myohämatin möglichst abzutrennen und für genauere Untersuchungen zugänglich zu machen, um es vor Allem bei durchfallendem Lichte beobachten zu können, wurde eine Scheidung von Muskel und Flüssigkeit vorgenommen. Die Massen wurden durch Leinenfilter gepresst. Mit den dadurch erhaltenen Flüssigkeiten wurden, wenn sie eine ClNa-Lösung darstellten, je nach der Menge grössere oder kleinere, mit Glaspfropfen verschliessbare Flaschen ausgefüllt. Die früher mit Aether behandelten Flüssigkeiten wurden in ähnlichen Flaschen mit Aether übergossen.

Diese letzteren Lösungen, welche besonders reichlich mit Myohämatin versehen waren, wurden mit dem oben beschriebenen grösseren Spektralapparat untersucht. Die für das Myohämatin charakteristischen Streifen im Spektrum wurden hinsichtlich ihrer Stellung und Stärke mit den ihnen sehr ähnlichen Streifen verglichen, welche zwei verschiedene Arten von Hämochromogenlösungen lieferten.

Die eine Gruppe dieser Hämochromogenlösungen war von Herrn Prof. Hoppe-Seyler selbst nach der von ihm angegebenen Methode angefertigt worden. Er liess Hämoglobinlösungen von verschiedenem Gehalt an Hämoglobin in zugeschmolzenen Röhren stehen, bis durch die Fäulniss der vorhandene Sauerstoff vollständig verbraucht war. Dieser Zustand war dann eingetreten, wenn in der Flüssigkeit auch nach längerem Schütteln keine Spur von Oxyhämoglobin durch das Spektroskop nachgewiesen werden konnte. Die Lösungen wurden dann im Wasserbad auf 100° erhitzt. Dadurch wird das Hämoglobin gespalten, und die Lösung liefert das Spektrum des Hämochromogen. Die andere Hämochromogenlösung wurde

nach den Angaben von Stokes hergestellt, indem zu einer alkalischen Hämatinlösung Schwefelammonium hinzugefügt wurde.

Die bei der Messung gefundenen Werthe sind in die nachfolgende Tabelle eingetragen. Die erste Rubrik derselben enthält die Bezeichnung der untersuchten Lösung. Die folgende Rubrik verzeichnet die während der Messungen beobachtete Stellung der Linien D, E und b zu der Skala. Die dritte Rubrik

Bezeichnung der Lösungen.	Stellung der Linien.			Stellung der Streifen				Wellenlängen.			
				I.		II.		Streifen I.		Streifen II.	
	D	E	b	Anf.	Ende.	Anf.	Ende.	Anfang.	Ende.	Anfang.	Ende.
Hämochromogenlösung nach Hoppe-Seyler . . .	0	50	60	20	35	50	63	5653,0	5473,75	5269,00	5139,15
Hämochromogenlösung nach Stokes	—	—	—	17	31	45	60	5688,95	5521,55	5354,25	5175
Stark alk. Hämochromogenlösung nach Stokes . .	—	—	—	17	31	45	60	5688,95	5521,55	5354,25	5175
Myohämatin vom Hund . .	—	—	—	27	35	57	63	5569,35	5473,75	5210,85	5139,15
Myohämatin von Taube . .	—	—	—	27	35	53	67	5569,35	5473,75	5288,65	5091,35
Wellenlänge d. Sonnenlinien nach Angström . . .	5894	5269	5175	—	—	—	—	—	—	—	—

enthält die gefundenen Begrenzungen der Absorptionsstreifen, welche in Theilstrichen der Skala aufgezeichnet sind. Dabei ist die nach dem rothen Ende des Spektrums stehende Grenze als Anfang, die nach der violetten Seite stehende als Ende bezeichnet worden. In der letzten Rubrik endlich stehen dieselben Grenzlinien, deren Stellungen zum Sonnenspektrum nach Angström[1]) berechnet sind. Als Grundlage dienten dafür die von Angström angegebenen Werthe der Wellenlängen der Linien D, E und b, welche gleichfalls in der zweiten Rubrik notirt sind.

Es zeigt sich bei Betrachtung der Tabelle, dass die Streifen des Myohämatin, verglichen mit denen des Hämochromogen, nach der stärker gebrochenen Seite des Spektrums hin verschoben sind. Aber auch die Hämochromogenlösungen verschiedenen Ursprungs stimmen hinsichtlich der Stellung ihrer Absorptionsstreifen nicht genau mit einander überein. Diejenigen Lösungen, welche nach Stokes' Vorschrift hergestellt sind, entwerfen ein Spektrum, dessen Streifen dem schwächer gebrochenen Theil des Spektrums näher stehen als die nach Hoppe-Seyer's Angaben angefertigten Hämochromogenlösungen.

Es wurde untersucht, ob diese Verschiedenheit in der Stellung der Streifen mit dem Unterschied im Alkaligehalt der Lösungen zusammenhängt. Zwei nach Stokes hergestellte Hämochromogenlösungen, von denen die eine sehr viel, die andere wenig Natronlauge enthielt, zeigten keine Verschiedenheiten im Spektrum. Ferner konnten weder durch Zusatz von Natronlauge noch von kohlensaurem Natron zu den Myohämatinlösungen Veränderungen in der Stellung der Absorptionsstreifen hervorgebracht werden.

Durch Zusatz von sauerstofffreier Salzsäure zu der Myohämatinlösung wurde das Myohämatinspektrum zum Verschwinden gebracht.

Es wurde ferner das Verhalten des Myohämatin dem atmosphärischen Sauerstoff gegenüber untersucht. Wurden die Myohämatinlösungen (die mit Aether bedeckten nach Abgiessen

---

[1]) A, J. Angström, Recherches sur le Spectre solaire.

des Aethers) mit Luft geschüttelt, so wurden die Myohämatinstreifen im Spektrum schwächer, und nach längerem Stehen der Flüssigkeiten an der Luft verschwanden sie vollständig.

Es war in einzelnen Lösungen noch eine Spur von Oxyhämoglobin, in anderen nur noch eine gleichmässige Verdunkelung des gesammten Spektrums zu sehen. Diese letztere ist auf die Anwesenheit von Hämatin in der Flüssigkeit zu beziehen.

Wurde nun der Aether wieder aufgegossen und die Einwirkung des atmosphärischen Sauerstoffs wieder aufgehoben, so stellte sich nach ein bis zwei Tagen das Myohämatinspektrum wieder ein. Diese Beobachtung konnte mehrmals an derselben Flüssigkeit wiederholt werden, schliesslich aber blieb das Myohämatin aus. Wenn man dann der Lösung Schwefelammonium zusetzte, so erschienen die Myohämatinstreifen in ihrer früheren oder in noch grösserer Stärke wieder.

Die vorstehenden Untersuchungen haben in wesentlichen Punkten andere Resultate ergeben als die Arbeiten von MacMunn. Der Letztere hat das Myohämatin theils sofort nach der Zubereitung des Präparates, theils nach wenigen Stunden nachweisen zu können geglaubt; ich habe gefunden, dass in den Muskeln und in den zubereiteten Muskelmassen von vornherein nur Hämoglobin vorhanden ist, dass allmählich durch Verschwinden des Sauerstoffs das Oxyhämoglobin in Hämoglobin übergeführt wird und endlich in den tiefsten Theilen, in denen der Sauerstoff zuerst verschwunden ist, wo also der Sauerstoff verzehrende Process am längsten und intensivsten gewirkt hat, das Hämoglobin in Myohämatin übergeht.

MacMunn fand, dass der Sauerstoff keine Einwirkung auf das Myohämatin ausübe. Nach meinen Untersuchungen verschwindet das Myohämatinspektrum bei Zutritt von atmosphärischem Sauerstoff zu den Myohämatinlösungen, und es tritt eine Verdunkelung des Spektrums ein, welche auf Hämatin zu beziehen ist. Durch Zusatz von reducirenden Substanzen wird das Myohämatinspektrum wieder zum Vorschein gebracht, wie dies auch MacMunn angibt. MacMunn sagt, dass das Spektrum des Myohämatin dem des Hämochromogen ähnlich

sei, aber doch einige Verschiedenheiten von demselben zeige. Nach der oben aufgestellten Tabelle besteht die Aehnlichkeit in der Gleichheit der Stärke und gegenseitigen Entfernungen der entsprechenden Absorptionsstreifen; die Verschiedenheit darin, dass die Streifen des Myohämatin näher dem violetten Theile des Spektrums stehen als die des Hämochromogen. Dieser Unterschied verliert an Bedeutung dadurch, dass die Hämochromogenlösungen verschiedenen Ursprungs gleichfalls kleine Unterschiede hinsichtlich der Stellung ihrer Absorptionsstreifen zeigen.

Aus diesen Gründen nehme ich an, dass das Myohämatin nicht, wie MacMunn glaubt, ein besonderer dem Muskel eigenthümlicher Farbstoff ist, sondern ein Zersetzungsprodukt des Hämoglobin darstellt. Seine spektroskopischen Erscheinungen sowohl als seine Entstehungsweise und seine Reaktionen beweisen, dass es Hämochromogen ist.

Hämochromogen entsteht, wenn Hämoglobin bei Abwesenheit von Sauerstoff durch Erhitzen auf 100° gespalten, oder wenn dem Hämatin in alkalischer Lösung durch reducirende Substanzen Sauerstoff entzogen wird. Nur die letztere Entstehungsweise ist unter den, in den obigen Untersuchungen hergestellten Bedingungen denkbar.

Da in den Muskeln ursprünglich nur Hämoglobin enthalten ist, so muss dasselbe erst gespalten und in Hämatin umgewandelt, das letztere dann reducirt und in Hämochromogen übergeführt werden. Diese doppelte Aufgabe leistet die Fäulniss, welche nach kurzer Zeit in den Massen beginnt. Damit aber die beiden Vorgänge der Spaltung und der Reduktion ungestört verlaufen können, darf die Fäulniss keine zu stürmische sein. Dies wird erreicht, wenn die Fäulniss durch Aufgiessen von Aether oder durch ClNa verlangsamt wird. Wenn nun zu den Hämochromogenlösungen der Sauerstoff der atmosphärischen Luft tritt, so wird das Hämochromogen zu Hämatin oxydirt. Wird aber die Einwirkung des Sauerstoffs wieder aufgehoben, so tritt die reducirende Kraft der Fäulniss wieder in Thätigkeit und es wird wieder Hämochromogen gebildet, welches spektroskopisch nachweisbar ist. Das Letztere

geschieht auch dann, wenn zu den Lösungen, in denen durch Einwirkung des Sauerstoffs das Hämochromogen in Hämatin übergeführt war, reducirende Agentien gebracht werden.

So wie das Myohämatin sich als Hämochromogen erwiesen hat, so lässt sich Aehnliches für die anderen von MacMunn entdeckten und von ihm Histohämatine genannten Farbstoffe annehmen. Dieselben scheinen nach den von ihm gegebenen Zeichnungen ihrer Spektra aus gemischten Zersetzungsprodukten des Hämoglobins zu bestehen.

Ueber die densimetrische Bestimmung des Zuckers im Harn.

Von

Dr. V. Budde (Kopenhagen).

(Der Redaction zugegangen am 3. November 1888.)

Professor Huppert und Physikus Záhor haben in dieser Zeitschrift (Bd. XII, H. 6, 1888) eine Reihe sehr interessanter und eingehender Untersuchungen über die densimetrische Bestimmung des Eiweisses in Lösungen veröffentlicht. Der Hauptpunkt dieser Methode ist, dass man die Menge des Eiweisses durch Multiplication von einem gewissen Faktor mit der durch die Entfernung des Eiweisses bewirkten Verminderung der Dichte der Lösung bestimmt. Schon im Jahre 1870 habe ich durch physische und mathematische Betrachtungen gezeigt[1], dass der genannte Faktor keineswegs, wie man früher gemeint hatte, eine constante Grösse sei — er ist und muss seiner Natur zufolge eine variable Grösse sein. Prof. Huppert's Untersuchungen bestätigen vollständig die Richtigkeit meiner theoretischen Betrachtungen. Er kommt zu dem Resultate, dass man erstens nicht einen constanten, sondern einen, durch empirische Versuche bestimmten, variablen Faktor brauchen soll, und demnächst, dass die densimetrische Methode selbst unter dieser Voraussetzung nur dann für die Eiweissbestimmung zu verwenden ist, wenn Schätzungen genügen, in welchen die Decigramme noch richtig sind, die Centigramme dagegen falsch. Physikus

[1] «Bibliothek for Laeger», Bd. 20, 1870. – Vergl. auch Pflüger's Arch. f. Physiologie, Bd. 40, S. 137.

Záhor hat das Problem speciell in Betreff auf die Bestimmung des Eiweisses im Harn behandelt und hat gefunden, dass man hier mit Verwendung eines constanten Faktors, den er = 400 setzt, zu befriedigenden Ergebnissen gelangen kann. Der Grund hierzu liegt in der kleinen Menge des Eiweisses im Harne und der entsprechenden kleinen Dichteabnahme bei der Entfernung dieser Substanz. Während die Dichtedifferenz bei den von Prof. Huppert untersuchten Lösungen sich zwischen 0,0016 und 0,0128 bewegte, betrug sie bei den Harnproben nur 0,00012—0,0020. Der Fehler, der bei der Verwendung eines constanten Faktors eintritt, wird daher bei den Harnproben so klein, dass er nicht mehr in Betracht kommt.

Im Anschluss zu diesen Resultaten erlaube ich mir, die Aufmerksamkeit auf eine völlig analoge Frage zu lenken. Roberts hat, wie bekannt, die densimetrische Methode zur Bestimmung des Zuckers im Harn verwendet, indem er den Zucker durch Gährung entfernte und die dadurch bewirkte Dichteabnahme mit einem constanten Faktor, den er durch positive Versuche zu 230 bestimmte, multiplicirte. Bei späteren Untersuchungen über diese Methode gingen die Verfasser ebenfalls von der Voraussetzung aus, dass der Faktor constant sei, und Manasseïn bestimmte ihn zu 219, während Antweiler und Breidenbend ihn in einer Versuchsreihe = 218, in einer anderen = 263 fanden. Prof. Worm-Müller[1]) in Christiania betrachtet es ebenfalls als gegeben, dass der Faktor constant sei, so dass man nur den rechten Werth für ihn festzusetzen habe. Er bemerkt, dass, weil sich ausser dem Zucker auch andere, die Titrirflüssigkeit reducirende, aber nicht gährungsfähige Stoffe im diabetischen Harne befinden, man die «wirkliche» Zuckermenge nicht durch Titrirung vor der Gährung allein, sondern nur aus der Differenz im Reductionsvermögen vor und nach der Gährung bestimmen kann. Es ist nämlich einleuchtend, dass die Titrirung vor der Gährung sowohl den Zucker als die übrigen reducirenden Stoffe, die Titrirung nach der Gährung aber nur die letztgenannten

[1] Christiania Videnskabsselskabs Forhandlinger, 1883.

angiebt. Demnächst referirt er ein paar Versuchsreihen mit normalen (zuckerfreien) Harnproben, in welchen er chemisch reinen Traubenzucker in wechselnder Menge von 0,0625 bis 4,0 % gelöst hatte, und einen Versuch mit 3 diabetischen Harnproben, von welchen doch die mittlere ausgeschoben werden muss, und findet, dass die durch die Weggährung des Zuckers bewirkte Dichteabnahme, mit 230 multiplicirt, die Zuckermenge, bestimmt durch die Differenz im Reductionsvermögen vor und nach der Gährung, annähernd angiebt. Er kommt zu dem Resultat, dass die Roberts'sche Methode nicht anwendbar ist, wo der Zuckergehalt des Harns weniger als 0,5 % (später näher zu 0,4 % bestimmt) beträgt, wo aber die Procentmenge des Zuckers über dieser Grenze liegt, ist sie «ein exactes, wissenschaftliches Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Zuckers im Harn und wird kaum von einem anderen an Sicherheit übertroffen.» In einer späteren Abhandlung empfiehlt er demnach die Anwendung der Methode in chemischen Instituten und in Spitälern, die unter wissenschaftlicher Controlle stehen, während sie sich zu klinischem Gebrauche für gewöhnliche Praktiker nicht eignet, weil es diesen an den nöthigen Apparaten (Sprengel's Pyknometer u. s. w.) und an der nöthigen Uebung in dergleichen Untersuchungen fehlt.

Hiergegen habe ich geltend gemacht, dass Roberts eben seine Methode als eine rein praktische (klinische) empfiehlt, und dass ihr wirklicher Werth darin besteht, dass sie dem praktischen Arzte ein sehr einfaches und verhältnissmässig leicht anwendbares Mittel zur Bestimmung des Zuckers im diabetischen Harne darbietet. Für die chemischen Laboratorien kann ihre Bedeutung nicht gross sein, weil sie weder an Schnelligkeit noch an Genauigkeit mit den modernen Titrirmethoden concurriren kann. Soll sie aber von den Praktikern benutzt werden, muss sie keine theuren und schwer anwendbaren Apparate, keine zeitraubenden Untersuchungen fordern. Ferner müssen ihre Resultate mit den durch die gewöhnlichen Titrirungen gewonnenen vergleichbar sein. Bei diesen letztgenannten findet man ja nicht nur die Zuckermenge, sondern

auch die Menge der übrigen reducirenden Stoffe, und würde man den Faktor in der Weise bestimmen, dass er die Zuckermenge allein (ohne die genannten Stoffe) gäbe, würde ein Vergleich zwischen den Resultaten der beiden Methoden grosse Missverständnisse veranlassen können. Es ist daher aus praktischen Gründen nothwendig, dass man den Faktor durch Division der Zuckermenge, durch eine einzelne Titrirung vor der Gährung bestimmt, mit der durch die Gährung bewirkten Dichteabnahme berechnet.

An und für sich ist es höchst unwahrscheinlich, dass ein constanter Faktor in diesem Falle sollte selbst nur annähernd die Genauigkeit darbieten können, die man von einer exacten, wissenschaftlichen Methode zu fordern pflegt. Die Vergährung des Zuckers ist ja ein sehr complicirter Process, dessen Einzelheiten lange noch nicht vollständig eruirt sind, aber so viel steht doch fest, dass er in sehr verschiedener Weise verlaufen kann, und eine Reihe Nebenumstände bieten noch mehrere Quellen zur Variation dar. Dass das Verhältniss hier so einfach sei, als ein constanter Faktor voraussetzt (directe Proportionalität zwischen der Zuckermenge und der Differenz der Dichten vor nnd nach der Gährung), ist, wie schon gesagt, nicht zu erwarten, und die bisher vorliegenden Untersuchungen deuten auch nicht in der Richtung. Die Werthe für den Faktor, welche Roberts, Manasseïn, Antweiler und Breidenbend gefunden haben, variiren, wie schon genannt, zwischen 218 und 263. Worm-Müller hat speciell Lösungen von bestimmten Gewichtsmengen von Traubenzucker in normalem Harn untersucht; seine Versuche scheinen also besonders günstige Bedingungen für Gleichförmigkeit im Verlaufe des Gährungsprocesses darzubieten, aber nichtsdestoweniger geben sie den Faktor von 218 bis 274 variirend, wenn man ihn in der von ihm empfohlenen Weise berechnet, und von 222 bis 263 variirend, wenn man sich zu den gelösten Zuckermengen hält — alles für eine Variation in der Zuckermenge von 0,5 bis 4,0%.

Endlich zeigt eine mathematische Behandlung mit unumstösslicher Sicherheit, dass der genannte Faktor variirt, dass

jede Einzelheit des Gährungsprocesses, jeder begleitende Nebenumstand, der in den verschiedenen Fällen verschieden ausfallen kann, seinen Theil zur Variation beiträgt, und dass die Variation wesentlich in einer bestimmten Richtung zu gehen scheint, indem der Faktor kleiner wird, wenn die Zuckermenge wächst. Diese Variation ist, schon wie sie aus der mathematischen Behandlung hervorgeht, so bedeutend, dass sie jeden Gedanken von der Verwendung der Roberts'schen Methode als eine «exacte wissenschaftliche Methode» ausschliessen zu müssen scheint, wogegen diese Methode sich wahrscheinlich sehr wohl zu klinischem Gebrauch eignet, doch nur unter der Voraussetzung, dass man einen variirenden Faktor anstatt des constanten einführt.

Als die einfachste Voraussetzung gehen wir davon aus, dass der Zucker aus dem Harn ohne andere Aenderungen entfernt werden kann. Nehmen wir an, dass in 100 Gewichtstheilen Harn, mit der Dichte v, x Gewichtstheile Traubenzucker, mit der Dichte v_2, gelöst sind, während v_1 die Dichte des Harns nach der Entfernung des Zuckers bezeichnet. Der Raum des ursprünglichen Harns $\frac{100}{v}$ ist dann gleich der Summe des Raumes des Harns nach der Entfernung des Zuckers und des Raumes des Zuckers $\frac{x}{v_2}$. Man hat also:

$$\frac{100}{v} = \frac{100 - x}{v_1} + \frac{x}{v_2} = \frac{100\,v_2 - x\,v_2 + x\,v_1}{v_1 v_2}$$

$$v = \frac{100\,v_1 v_2}{100\,v_2 - x\,(v_2 - v_1)}$$

und die Dichteabnahme

$$v - v_1 = \frac{100\,v_1 v_2 - 100\,v_1 v_2 + x\,(v_2 - v_1)\,v_1}{100\,v_2 - x\,(v_2 - v_1)} = \frac{x\,(v_2 - v_1)\,v_1}{100\,v_2 - x\,(v_2 - v_1)}.$$

Der Faktor der Roberts'schen Methode, der ja das Verhältniss zwischen der Zuckermenge und der Dichteabnahme ist, wird also

$$f = \frac{x}{v - v_1} = \frac{100\,v_2 - x\,(v_2 - v_1)}{(v_2 - v_1)\,v_1} = \frac{100\,v_2}{(v_2 - v_1)\,v_1} - \frac{x}{v_1}. \quad (1)$$

Um unnöthiger Weitläufigkeit zu entgehen, nehmen wir überall an, dass $v_2 = 1{,}538$ ist, während x von 0 bis 12 und v_1 von 1,002 bis 1,03 variiren kann, was annähernd mit den wirklichen Verhältnissen übereinstimmt. Man bekommt also hier

für $v_1 = 1{,}002$ und $x = 12 : f = 274{,}4$,
für $v_1 = 1{,}03$ und $x = 0 : f = 293{,}9$.

Die Formel (I) zeigt also unter dieser ersten und einfachsten Voraussetzung die Möglichkeit einer Variation im Werthe für $f : 293{,}9 - 274{,}4 = 19{,}5$.

Wir nehmen demnächst an, dass bei der Entfernung des Zuckers ausser a_2x Gewichtstheile Zucker noch a_3x Gewichtstheile von einem Stoffe mit der Dichte v_3, a_4x von einem Stoffe mit der Dichte v_4 u. s. w. entweder entfernt oder eingeführt werden. Indem a_3, a_4 u. s. w. negativ sind, wenn die Stoffe zugeführt, positiv, wenn sie entfernt werden, werden also $(a_2 + a_3 + \ldots.)x$ Gewichtstheile mit dem Volumen $\left(\frac{a_2}{v_2} + \frac{a_3}{v_3} + \ldots.\right)x$ entfernt. Setzt man ferner $a_2 + a_3 + \ldots. = A$ und $\frac{a_2}{v_2} + \frac{a_3}{v_3} + \ldots. = B$, dann bekommt man eine entfernte Gewichtsmenge Ax mit dem Volumen Bx, und man hat in derselben Weise wie früher:

$$\frac{100}{v} = \frac{100 - Ax}{v_1} + Bx$$

(das ursprüngliche Volumen = das restirende Volumen + das entfernte Volumen), woraus wieder

$$v - v_1 = \frac{100\, v_1}{100 - (A - Bv_1)x} - v_1 = \frac{(A - Bv_1)x \,.\, v_1}{100 - (A - Bv_1)x}$$

und $f = \frac{x}{v - v_1} = \frac{100 - (A - Bv_1)x}{(A - Bv_1)v_1} = \frac{100}{(A - Bv_1)v_1} - \frac{x}{v_1}$. (II)

Der Zucker wird durch Gährung entfernt, und wir nehmen erst an, dass er nur in Kohlensäure, die weggeht, und Aethylalkohol, der in dem restirenden Harne gelöst wird, zerlegt werde. Nach den chemischen Formeln für diese Stoffe bekommt man dann, indem $a_2 = 1$, x also die Procentmenge des Zuckers, die gebildete Alkoholmenge

$a_3x = -0{,}5111\ x$ und die Dichte des Alkohols $= 0{,}79$. Also wird:

$$A = a_2 + a_3 = 1 - 0{,}5111 = 0{,}4889;$$

$$B = \frac{1}{1{,}538} - \frac{0{,}5111}{0{,}79} = 0{,}0032.$$

Setzt man ferner $v_1 = 1{,}03$ und $x = 12$, bekommt man nach der Formel (II)

$$f = \frac{100}{(0{,}4889 - 0{,}0032 . 1{,}03) . 1{,}03} - \frac{12}{1{,}03} = 199{,}9 - 11{,}7 = 188{,}2.$$

Nach Pasteur's Untersuchungen[1]) kann man demnächst annehmen, dass 6 % des Zuckers für die Alkoholbildung verloren gehen; man bekommt also nur $0{,}5111 . 0{,}94\ x = 0{,}4804 . x$ % Alkohol, während der Rest des Zuckers $0{,}05\ x$ % Glycerin, mit der Dichte 1,26, ausser Cellulose und anderen Stoffen, welche bei der Filtrirung entfernt werden, giebt. Von den $0{,}4804 . x$ % Alkohol nehmen wir wieder an, dass $0{,}4804 . 0{,}026\ x$ % $= 0{,}0125 . x$ % Fuselöl mit der Dichte 0,82 sei, während der Rest $0{,}4679 . x$ % Aethylalkohol mit der Dichte 0,79 sei. Gleichzeitig setzen wir $v_1 = 1{,}002$ und $x = 0$, und haben dann:

$$A = a_2 + a_3 + a_4 + a_5 = 1 - 0{,}4679 - 0{,}05 - 0{,}0125 = 0{,}4696:$$

$$B = \frac{a_2}{v_2} + \frac{a_3}{v_3} + \frac{a_4}{v_4} + \frac{a_5}{v_5} = 0{,}00299;$$

$$f = \frac{100}{(0{,}4696 - 0{,}00299 . 1{,}002) . 1{,}002} - \frac{0}{1{,}002} = \frac{100}{0{,}4675} = 213{,}9.$$

Die Umbildung des Zuckers bei der Gährung wird in den verschiedenen Harnproben zwischen den hier angenommenen Grenzfällen variiren können, und die Formel (II) giebt also als mögliche Variation in dem Werthe für f : $213{,}9 - 188{,}2 = 25{,}7$. Nach Formel (I) könnte sie 19,5 betragen, und indem man die verschiedenen Umbildungen des Zuckers bei der Gährung berücksichtigt hat, ist die Grenze der Variation von f mit 6,2 gewachsen.

Bei dem Gährungsprocesse finden indessen auch andere Veränderungen statt, welche ausserhalb der Umbildung des

---

[1]) Pasteur: «Mémoire sur la fermentation alcoolique». Annal. de chimie et de physique, 1860.

Zuckers liegen, z. Beisp. die Contraction bei der Lösung des durch die Gährung gebildeten Alkohols im Harn. Mehrere Umstände sprechen dafür, dass diese Contraction sowohl grösser ist als bei Lösung in Wasser, als auch mit der Procentmenge des Zuckers wachsend; geht man aber davon aus, dass sie ungefähr dieselbe ist als die durch Lösung von Alkohol in Wasser bewirkte, kann man nach der von Brix[1]) mitgetheilten Tabelle über die letztgenannte Contraction als Mittelwerth annehmen, dass v_1 der Contraction zufolge für jedes Procent Zucker, welches der Harn enthält, mit 0,000375 vermehrt wird. Nennt man diesen Mittelwerth m, wird $v_1 - mx$ die Dichte bezeichnen, welche der restirende Harn würde gehabt haben, wenn keine Contraction stattgefunden hätte. Mit den früheren Bezeichnungen bekommt man dann:

$$\frac{100}{v} = \frac{100 - Ax}{v_1 - mx} + Bx$$

(das ursprüngliche Volumen = das restirende Volumen ohne Contraction + das ausgeschiedene Volumen), woraus man findet:

$$f = \frac{x}{v - v_1} = \frac{100 - [A - B(v_1 - mx)]x}{Av_1 - B(v_1 - mx)v_1 - 100m}. \quad \text{(III)}$$

Für m = 0 wird die Formel (III) mit der Formel (II) identisch, was sie selbstfolglich auch sein soll. Aus dem Voranstehenden wird es ersehen, dass B stetig einen Werth von c. 0,003 hat, und für den höchsten Werth von x wird man folglich haben:

$$Bmx = 0{,}003 . 0{,}000375 . 12 = 0{,}0000135.$$

Aendert man die Formel (III) zu:

$$f = \frac{100 - (A - Bv_1 + Bmx)x}{(A - Bv_1 + Bmx)v_1 - 100m}$$

und berücksichtigt man, dass der Ausdruck $A - Bv_1$ überall nur mit 4 Decimalen berechnet ist, dann ist es einleuchtend, das Bmx ohne Einfluss sein wird und demnach ausgeschlossen werden kann. Die Formel (III) wird demnach:

$$f = \frac{100 - (A - Bv_1)x}{(A - Bv_1)v_1 - 100m} = \frac{100}{(A - Bv_1)v_1 - 100m} - \frac{x}{v_1 - \frac{100m}{A - Bv_1}} \quad \text{(III)}$$

[1]) P. Bolley: Handbuch d. chem. Teknologie, Bd. 4, Gr. I, S. 277.

In den zwei früher nach der Formel (II) berechneten Grenzfällen wird man also nun haben:

für $v_1 = 1{,}03$ und $x = 12$,

$$f = \frac{100}{(0{,}4889 - 0{,}0032 . 1{,}03) . 1{,}03 - 0{,}0375} - \frac{12}{1{,}03 - \frac{0{,}0375}{0{,}4889 - 0{,}0032 . 1{,}03}} = 203$$

für $v_1 = 1{,}002$ und $x = 0$,

$$f = \frac{100}{(0{,}4696 - 0{,}00299 . 1{,}002) . 1{,}002 - 0{,}0375} = 232{,}5.$$

Berücksichtigt man die Contraction bei der Lösung des gebildeten Alkohols im Harn, wächst also die Grenze für die Variation von f bis 232,5 — 203,5 = 29. Sie ist 3,3 grösser als früher.

Prof. Worm-Müller's Versuche deuten an, dass die Lösung des Zuckers im Harn von einer bedeutenden, zudem höchst unregelmässigen Contraction begleitet ist, welche sich wahrscheinlich, wenn der Zucker entfernt wird, wieder als eine Ausdehnung geltend machen wird. Berücksichtigt man dies, wird die Grenze für die Variation von f offenbar wieder ausgedehnt werden. Ferner wird die Hefe, die benutzt wird, auch nach der Filtrirung sowohl Hefewasser als andere Stoffe im Harn nachlassen, welche einen gewissen Einfluss auf v_1 und damit auf $v - v_1$ und f haben müssen. Es drängt sich in der Weise das eine Moment nach dem anderen hervor, jedes als eine selbstständige Quelle zu Variation von f, jedes seine Wirkung zu der der übrigen fügend.

Die Richtigkeit der obenstehenden Darstellung hat Prof. Worm-Müller in mehreren Abhandlungen[1]) sehr scharf bestritten. Seine Einwendungen beruhen indessen, wie auch der Mathematiker Professor Westergaard[2]) gezeigt hat, auf einem Missverständniss der mathematischen Formeln. Der Hauptpoint liegt darin, dass er mein v_1 (die Dichte des Harns nach der Entfernung des Zuckers) aus den Formeln eliminirt verlangt, weil, sagt er, v_1 mit x variirt. Dies hat selbstfolg-

[1]) Christiania Videnskabsselskabs Forhandlinger, 1885, No. 18. — Pflüger's Archiv, Bd. 37 und 40.

[2]) «Ugeskrift for Laeger», Juni 23, 1888.

lich nichts zu bedeuten, weil ja v_1 eine Grösse ist, die in jedem gegebenen Falle vorliegt, und die, wenn man es wünscht, auch sehr leicht unter jeder gegebenen Voraussetzung berechnet werden kann. Anstatt v_1 führt er eine Grösse ein, welche er V nennt, und welche die Dichte des Harns, indem der Zucker ohne welche andere Aenderung entfernt gedacht wird, bezeichnet. Diese Grösse bestimmt er durch die Formel:

$$\frac{100}{v} = \frac{100 - x}{V} + \frac{x}{v_2}.$$

Hiergegen lässt sich Vieles einwenden, aber es springt gleich in die Augen, dass die Einführung einer Grösse, welche durch eine so unbequeme Gleichung bestimmt ist, unumgänglich die Formeln verwickelt und schwer zu überblicken machen muss, welche Eigenschaften dann auch Worm-Müller's Formeln in ungewöhnlichem Grade inhäriren. Der Hauptfehler ist indessen, was seine eignen Versuche am besten ausweisen, dass zufolge der starken und unregelmässigen Contraction bei der Lösung des Zuckers im Harn ist V, durch die obenstehende Formel bestimmt, eine höchst unzuverlässige Grösse, viel mehr variirend als v_1. Und endlich betrachtet er dieses V als eine constante Grösse in allen Fällen und = 1,02 — id est, er setzt die Dichte jedweder, zuckerfreier Harnprobe constant = 1,02. Es liegt in der Natur der Sache, dass er unter diesen, von den faktischen Verhältnissen sich so weit entfernenden, Voraussetzungen eine kleinere Variation für f finden muss als ich, und hierzu kommt noch, dass er als Regel f nicht bestimmt hat, sondern einen Ausdruck für $v - v_1$ gefunden und davon erklärt hat, dass die Observationsfehler in der Regel grösser sein dürften als der numerische Werth des Gliedes, welches die Variation in $v - v_1$ angiebt. Als Beispiel will ich nur einzelne seiner Gleichungen hervorheben, welche Prof. Huppert in seiner oben besprochenen Abhandlung mit der Bemerkung citirt, dass sie Worm-Müller nur dazu dient, zu zeigen, dass man sich in seinem Fall (Bestimmung des Zuckers nach Roberts) eines constanten Faktors bedienen kann. Unter der ersten, einfachsten Voraussetzung (dass der Zucker ohne andere Aenderungen

aus dem Harn entfernt werden kann) hat Worm-Müller durch eine unnöthige Reiheentwickelung und Approximation, welche das Resultat ungenau und weniger verständlich macht, gefunden:

$$v - v_1 = \frac{1}{291,1} x + 0,00001157\, x^2.$$

Hier, sagt er, kann das letzte Glied ausser Betracht gesetzt werden, weil die Observationsfehler in der Regel grösser als sein numerischer Werth sein werden, und das Verhältniss zwischen x und $v - v_1$ wird also constant. Man sieht aber leicht, dass für $x = 12$ (und thatsächlich kann x noch grösser als 12 sein), wird das letzte Glied: $0,00001157 . 144 = 0,00166608$; das heisst, es hat Einfluss auf die Grösse des 3. Decimals in $v - v_1$. Worm-Müller giebt durchgehend seine Dichtebestimmungen mit 5 Decimalen an, aber nach seiner Aeusserung von der Ueberlegenheit der Observationsfehler dem betreffenden Glied gegenüber sollte also nicht einmal der 3. von diesen 5 Decimalen zuverlässig sein; dies kann er doch wohl kaum meinen. Zudem ist seine Gleichung selbstfolglich unter der Voraussetzung $V = 1,02$ berechnet, während V ja thatsächlich von 1,002 bis 1,04 variiren kann. Führte man diese Variation in die Berechnung hinein, würde das letzte Glied selbstfolglich noch weit weniger ausser Betracht gesetzt werden können.

Die mathematische Behandlung zeigt, wie gesagt, unumstösslich, dass f keineswegs constant ist, dass es im Gegentheil für jede Variation, nicht nur in der Zuckermenge, sondern auch im Verlaufe des Gährungsprocesses und den begleitenden Verhältnissen, selbst eine entsprechende Variation bekommt. Und wenn auch jede einzelne dieser Variationen geringfügig erscheinen kann, läuft doch die Summe ihrer aller allmählich zu einer ansehnlichen Grösse auf, insbesondere weil sie wesentlich in derselben Richtung zu gehen scheinen und f kleiner machen, wenn x wächst. Jedenfalls kann die Roberts'sche Methode nicht für eine exacte, wissenschaftliche Methode gelten, selbst wenn man den Gedanken von einem constanten Faktor aufgiebt, dazu hängt dieser von allzu vielen variirenden Einzelheiten, welche sich unmöglich

in die Berechnung aufnehmen lassen, ab. Sollte es sich dagegen bei umfassenden Versuchen mit diabetischen Harnproben zeigen, dass sich bestimmte Werthe für f, mit den in den Versuchen vorliegenden Grössen variirend, aufstellen lassen, wird die Methode wahrscheinlich für klinische Untersuchungen hinlängliche Genauigkeit darbieten, und für solche empfiehlt sie sich ja auch als sehr leicht anzuwenden und sehr wenig zeitraubend.

Als Anleitung für die Bestimmung eines solchen Faktors bemerke ich, dass es zweckmässigst sein wird, f, nicht wie oben durch v_1 und x, sondern durch v_1 und v zu bestimmen, weil ja diese Grössen in den Versuchen vorliegen. Wir kehren zu der Gleichung zurück:

$$\frac{100}{v} = \frac{100 - Ax}{v_1} + Bx$$

(wo $A = a_2 + a_3 + \ldots.$; und $B = \frac{a_2}{v_2} + \frac{a_3}{v_3} + \ldots.$), woraus gefunden wird:

$$x = \frac{100\,(v - v_1)}{(A - Bv_1)v} \text{ und } f = \frac{x}{v - v_1} = \frac{100}{(A - Bv_1)v}.$$

Führt man hier die Contraction bei der Lösung des gebildeten Alkohols im Harn ein, bekommt man unter Beibehaltung derselben Bezeichnungen wie früher:

$$f = \frac{100}{(A - Bv_1)v - 100\,m}.$$

B ist hier, wie es aus dem Vorangehenden hervorgeht, eine sehr kleine Grösse im Vergleich mit A (das Verhältniss ist ungefähr 2 : 300), und es dürfte vielleicht hinlänglich sein, f unter folgender Form zu bestimmen:

$$f = \alpha + \beta v$$

wo α und β empirisch bestimmte Constante sind. Um so weit als möglich auch die Contraction zu berücksichtigen, dürfte es vielleicht richtig sein, die Wirkung der Einführung von v_1 oder $v - v_1$ in den Ausdruck für f zu untersuchen.

Wie schon mehrmals bemerkt, kann die mathematische Behandlung an und für sich indessen nur zeigen, dass die

Variation von f mit jedem neuen Moment, in oder ausserhalb dem Gährungsprocess, welches in die Berechnung hineingezogen wird, wächst, und sie kann zu der Conclusion leiten, dass dasselbe wahrscheinlich auch gilt in Betreff auf die weit grössere Menge von Momenten, die man nicht kennt, oder die man jedenfalls nicht in die theoretische Untersuchung hineingezogen hat. Gelöst kann aber die Frage nur werden durch eine correct ausgeführte Versuchsreihe mit diabetischen Harnproben von so verschiedenartiger Zusammensetzung, als eben möglich, und durch eine auf sie fussende Untersuchung von der Natur und dem Werthe des Faktors. Möchten diese Versuche in eben so einsichtiger und correcter Weise durchgeführt werden als die, welche der Abhandlung «Ueber die densimetrische Bestimmung des Eiweisses» als Grundlage dienen.

Und es muss dabei auch erinnert werden, dass, wenn Záhor gefunden hat, dass man bei der densimetrischen Bestimmung des Eiweisses im Harn einen constanten Faktor anwenden kann, dann ist der Grund nur darin zu suchen, dass die Eiweissmenge und die durch ihre Fällung bewirkte Dichteabnahme so gering ist, während sowohl die Zuckermenge im Harn als auch die durch ihre Vergährung bewirkte Dichteabnahme weit grösser werden können, als die entsprechenden Werthe in den von Prof. Huppert untersuchten Lösungen. Während die Differenz der Dichten bei diesen nur bis 0,0128 betrug, kann sie nach meinen Untersuchungen[1]) bei der Vergährung des Zuckers in Harnproben bis 0,054 betragen. Die Resultate, zu welchen Prof. Huppert gelangt ist, müssen daher wahrscheinlich in noch höherem Grade von dem bei der densimetrischen Bestimmung des Zuckers im Harn benutzten Faktor gelten.

---

[1]) «Ugeskrift for Laeger», R. 4, Bd. IX, No. 26, 27.

Ueber den Gehalt der Organe und Gewebe an Wasser und festen Bestandtheilen bei hungernden und durstenden Tauben im Vergleich mit dem bezüglichen Gehalt bei normalen Tauben.

Von

S. M. Lukjanow (Warschau).

(Der Redaction zugegangen am 6. December 1888.)

In der vorliegenden kurzen Mittheilung will ich die analytischen Ergebnisse anführen, welche von zwanzig normalen und zwanzig hungernden und durstenden Tauben gewonnen wurden. Die betreffenden Data beziehen sich auf den Gehalt der Organe und Gewebe an Wasser und festen Substanzen und resultiren aus Bestimmungen, welche ich an einer ziemlich grossen Reihe von Objecten vorgenommen habe. Es kamen folgende Körpertheile zur Untersuchung: Blut, Gehirn, Thoraxmusculatur (rechtsseitige), Leber, Pankreas, Duodenalwandungen, Milz, Nieren, Herzmuskel, Lungen, Oberschenkelmusculatur (rechtsseitige) und Oberschenkelknochen (rechtsseitige). Die Gesammtzahl der Bestimmungen beläuft sich auf **480**. Alle Einzelheiten der Ausführungsweise der Versuche übergehe ich mit Stillschweigen, indem ich auf die in den diesjährigen «Berichten der Universität Warschau» in russischer Sprache veröffentlichte ausführliche Mittheilung[1]) verweise. Es sei nur hervorgehoben, dass ich verschiedene Massregeln getroffen habe, um die Zahlen, welche sich aus den in Rede stehenden Versuchen ergaben, recht vergleichbar zu machen[2]).

[1]) Berichte der Universität Warschau, 1888, No. 6 u. 7: «Zur Lehre von den Veränderungen der Organe und Gewebe in Bezug auf ihre Zusammensetzung unter pathologischen Verhältnissen» (I. Mittheilung).

[2]) Der Bestand beider Versuchskategorien war in Hinsicht auf's Geschlecht ein gleicher. Sowohl die Kost aller benutzten Tauben vor Beginn der Hungerversuche, als auch die der Controlthiere während der Experimente, war vollkommen identisch. Alle Thiere sind nach demselben Modus getödtet worden (Decapitation). Bei Entnahme der zu untersuchenden Portionen von Organen und Geweben wurde stets eine und dieselbe Reihenfolge beobachtet. Die Exsiccation fand in Luftbädern statt, welche

Das ganze von mir gesammelte Material [illegible]

Tabe[illegible]

No. des beobachteten Thieres.	Geschlecht.	Körpergewicht in gr.	Procent[illegible]						
			des Blutes.		des Gehirns.		der Thorax-muskeln.		[illegible]
I	M.	258	76,10	23,90	80 69	19,31	72,34	27,66	72,[illegible]
II	M.	259	76,19	23.81	79,40	20,60	72,78	27,22	75,[illegible]
III	M.	267	76,53	23,47	80,75	19,25	73,10	26,90	75,[illegible]
IV	M.	287	74,59	25,41	79,62	20,38	72,66	27,34	72,[illegible]
V	M.	291	77,04	22,96	80,38	19,62	73,85	26,15	76,[illegible]
VI	M.	294	77,09	22,91	79.72	20,28	71,76	28,24	73,[illegible]
VII	M.	298	79,44	20,56	79,30	20,70	74,04	25,96	76,[illegible]
VIII	M.	300	77,01	22,99	81,24	18,76	72,38	27,62	75,[illegible]
IX	M.	315	78,0[illegible]	21,97	79,65	20,35	71,51	28,49	73,[illegible]
X	M.	357	75,88	24,12	78,61	21,39	71,76	28,24	72,[illegible]
Mittelwerthe		292,6	76,79	23,21	79,94	20,06	72,62	27,38	74,1[illegible]

Tabell[illegible]

No. des beobachteten Thieres.	Geschlecht.	Körpergewicht in gr.	Procent[illegible]						
			des Blutes.		des Gehirns.		der Thorax-muskeln.		[illegible]
XI	W.	159	77,93	22,07	79,99	20,01	72,60	27,40	74,[illegible]
XII	W.	175	80.04	19,96	80,91	19,09	76.48	23,52	77,1[illegible]
XIII	W.	245	78,97	21,03	81,10	18,90	74,77	25,23	76,6[illegible]
XIV	W.	252	76,53	23,4[illegible]	80,78	19,22	72,47	27,53	77,7[illegible]
XV	W,	262	74,63	25,37	79,42	20,58	71,11	28,89	71,4[illegible]
XVI	W.	263	77,84	22,16	81,26	18,74	74,40	25,60	72,6[illegible]
XVII	W.	288	77,99	22,01	80,62	19,38	71,44	28,56	72,8[illegible]
XVIII	W.	295	76,23	23,77	79,11	20,89	73,09	26,91	73,7[illegible]
XIX	W.	311	78,62	21,38	81,32	18,68	75,06	24.94	75,2[illegible]
XX	W.	316	74.71	25,29	79,14	20,86	71,41	28,59	71,8[illegible]
Mittelwerthe		256,6	77,35	22,65	[illegible]0,37	19,63	73,28	26,72	74,3[illegible]

mit Thermoregulatoren versehen sind, bei einer Temperatur zwischen 110° [illegible] 115° C. (das Gehirn setzte ich der Exsiccation bei 60—70° C. aus). Nach Ablauf [illegible] gewissen Zeit wurden alle Portionen mit thunlichster Vorsicht zu feinem Pulver [illegible]rieben. Die Exsiccation habe ich in üblicher Weise bis zur vollkommenen Constan[illegible]

ılgenden Tabellen zusammengestellt worden.

əlthiere.

sser und festen Bestandtheilen:

.s.	der Darmwand.		der Milz.		der Nieren.		des Herzens.		der Lungen.		der Oberschenkelmuskeln.		der Oberschenkelknochen.	
,28	76,02	23,98	77.63	22,37	77,49	22,51	77,63	22,37	77,45	22,55	74,21	25,79	46,79	53,21
,33	76,79	23,21	79,33	20,67	77,16	22,84	77,11	22,89	77,47	22,53	71,61	28,39	53.32	46,68
,33	78,18	21,82	78,18	21,82	76.81	23,1[illegible]	76,23	23,77	77,98	22,02	73,20	26,80	44,01	55,99
,62	73,14	26,86	79,75	20,25	76,20	23,80	76,92	23,08	77,09	22,91	75,09	24,91	45,10	54,90
,22	78,53	21,47	78,89	21,11	78,18	21,82	77,73	22,27	78,76	21,24	75,02	24,98	52,15	47,85
,32	77,21	22,79	78,68	21,32	77,21	22,79	76,43	23,57	77,51	22,49	74,45	25,55	46,03	53,97
,80	77,70	22,30	78,57	21,43	78,69	21,31	78,08	21,92	79,55	20,45	74,67	25,33	49,82	50,18
,73	74,47	25,53	80,54	19,46	77,27	22,73	76,59	23,41	78,79	21,21	74,66	25,34	52,18	47,82
,71	75,64	24,36	78,49	21,51	76,82	23,18	76,22	23,78	78,68	21,32	73,89	26,11	45,00	55,00
,92	76,05	23,95	79,46	20,54	77,24	22,76	76,70	23,30	76,53	23,47	75,44	24,56	43,01	56,99
,33	76,37	23,63	78,95	21,05	77,31	22,69	76,96	23,04	77,98	22,02	74,22	25,78	47,74	52,26

olthiere.

ısser und festen Bestandtheilen:

as.	der Darmwand.		der Milz.		der Nieren.		des Herzens.		der Lungen.		der Oberschenkelmuskeln.		der Oberschenkelknochen.	
1,59	76.18	23,82	78,85	21,15	76,82	23,18	77,70	22,30	77,15	22,85	74,09	25,91	57,55	42,45
4,13	80,28	19,72	78,50	21,50	79,89	20,11	79,09	20,91	79,65	20 35	78,46	21,54	53,84	46,16
2,69	77,67	22,33	78,96	21,04	78,58	21,42	78,65	21,35	78.39	21,61	77,79	22,21	49,93	50,07
3,25	76,77	23,23	80,28	19,72	77,10	22,90	76,76	23,24	78,37	21,6[illegible]	74,36	25,64	47,40	52,60
5,98	74,04	25,96	74,67	25,33	76,80	23,20	75,35	24,65	76,88	23,12	73,88	26,12	44,87	55,13
5,43	78,07	21,93	80,72	19,28	77,48	22,52	77,80	22,20	78,63	21,37	76,21	23,79	41,70	58,30
7,40	75,05	24,95	78,64	21.36	76 85	23,15	77,19	22,81	79,03	20,97	75,48	24,52	38,52	61,48
9,26	78,55	21,45	80,92	19,08	78,54	21,46	77,53	22,47	77,07	22,93	73.90	26,10	43,65	56,35
3,85	79,85	20,15	77,63	22,37	77,85	22,15	77,97	22,03	79,52	20 48	77,55	22,45	41,65	58,35
5,36	70.41	29,59	79,22	20,78	75,15	24,85	75.02	24.98	77,03	22.97	73,32	26,68	43.03	56,97
4,09	76,69	23,31	78,84	21,16	77,51	22,49	77,31	22,69	78,17	21,83	75,50	24,50	46,21	53,79

ıtes fortgesetzt. Das Blut wurde den durchschnittenen Halsgefässen entnommen. udium der Gewichtsschwankungen ganzer Organe lag nicht im Bereiche meines ichen Themas, da aber einige Organe zur Analyse in toto verwendet wurden, so te ich diese Gelegenheit, um auch zur Lösung dieser Frage Etwas beizutragen.

Tabelle IIa. Ver

No. des Versuchsthieres.	Initial- Körpergewicht in gr.	Terminal- Körpergewicht in gr.	Absoluter Gewichtsverlust in gr.	Relativer Gewichtsverlust in % des Initialgew.	Dauer des Versuchs in Stunden.	Procentg des Blutes.		des Gehirns.		der Thoraxmuskeln.		L
XXI	256	171	85	33,2	142,5	74,62	25,38	80,17	19,83	70,55	29,45	72,8
XXII	259	198	61	23,6	140	78,44	21,56	79,81	20,19	75,80	24,20	73.
XXIII	268	181	87	32,5	142	75,04	24,96	79,28	20,72	70,56	29,44	70.
XXIV	283	183	100	35,3	143,5	75,66	24,34	81,20	18,80	76,22	23.78	73.
XXV	285	183	102	35,8	142,25	76,67	23,33	80,01	19,99	72,35	27,65	71,
XXVI	294	180	114	38,8	144,25	79,53	20,47	80,28	19,72	75,71	24,29	74.
XXVII	311	200	111	35,7	120	80,31	·9,69	77,72	22,28	77,47	22,53	73,8
XXVIII	326	200	126	38,7	165,25	75,89	24.11	80,02	19,98	71,34	2×,66	72,6
XXIX	346	179	167	48,3	189	77,13	22,87	79,78	20,22	70,77	29,23	70.7
XXX	365	213	152	41,6	213,5	80,26	19.74	78,99	21,01	78,22	21,78	73,0
Mittelwerthe:	299,3	188,8	110,5	36,9	154,2	77,36	22,64	79,73	20,27	73,90	26,10	72.

Tabelle IIb. Ver

No. des Versuchsthieres.	Initial- Körpergewicht in gr.	Terminal- Körpergewicht in gr.	Absoluter Gewichtsverlust in gr.	Relativer Gewichtsverlust in % des Initialgew.	Dauer des Versuchs in Stunden.	Procentg des Blutes.		des Gehirns.		der Thoraxmuskeln.		L
XXXI	222	163	59	26,6	99	77,53	22.47	79,69	20,31	71,11	28,89	69,
XXXII	249	167	82	32,9	172	81,87	18,13	79,79	20,21	76,76	23,24	73.
XXXIII	252	155	97	38,5	151,5	77,30	22,70	79 41	20,59	75,20	24 80	73.
XXXIV	253	200	53	21,0	120	77,36	22,64	80,67	19,33	71,84	28,16	72.
XXXV	260	158	102	39.2	145	80 50	19,50	79,69	20,31	77,21	22,79	72.
XXXVI	269	185	84	31,2	143,5	76,68	23,32	79,68	20,32	70,70	29,30	72.
XXXVII	285	191	94	32.3	192,5	78,33	21,67	79.54	20,46	72,08	27,92	71
XXXVIII	295	189	106	35,9	151	74,83	25,17	79,30	20,70	70,20	29,80	70.
XXXIX	304	217	87	28,6	216	75,23	24,77	79,94	20,06	70,81	29.19	70.
XL	351	278	73	20,8	120	75,42	24,58	80,50	19,50	70,04	29,96	69.
Mittelwerthe:	274	190,3	83,7	30,6	151,1	77,51	22,49	79,82	20,18	72,60	27,40	[illegible]

…. Männchen.

…asser und festen Bestandtheilen:

…as.	der Darmwand.		der Milz.		der Nieren.		des Herzens.		der Lungen.		der Oberschenkelmuskeln.		der Oberschenkelknochen.	
8,11	75,12	24,88	80,49	19,51	76,78	23,22	75,90	24.10	76,95	23,05	76.19	[illegible]3,81	48,37	51,63
5,18	78,[illegible]3	21,97	81,69	18 31	77,53	22,47	78,28	21,72	78,33	21.67	78,69	21,31	56,28	43,72
7,83	74,63	25.37	80,36	19,64	76,22	23,78	76,01	23,99	75,18	24,82	73.41	26,59	42,72	57,28
5,00	76,36	23,64	79,59	20,41	78,01	21,99	77,70	22,30	77,34	22,66	77,97	22,03	58,09	41.91
6,00	76,93	23,07	75,68	24,32	77,20	22,80	77,31	22,69	77.13	22,87	76,23	23,77	56,03	43,97
5,16	77,04	22,96	79,57	20,43	80,61	19,39	78,63	21,37	78,97	21,03	78,05	21,95	59.61	40,39
3,13	77,24	22,76	78,84	21,16	79,28	20,72	77,28	22,72	79,95	20.05	78,90	21.10	53,83	46,17
7,40	74,09	25,91	74,44	25,56	76,73	23.27	76.75	23,25	77,79	22,21	75,68	24,32	47.72	52,28
6,85	75,66	24,34	81,54	18,46	76,47	23,53	76,05	23,95	78 04	21,96	74,20	25,80	54,47	45,53
4,09	76,00	24,00	75,29	24,71	78,55	21,45	77,40	22,60	79,05	20,95	80.07	19,93	52,87	47,13
5,87	76,11	23,89	78,75	21,25	77,74	22,26	77,13	22,87	77,87	22,13	76,94	23,06	[illegible]3,00	47,00

…e. Weibchen.

…asser und festen Bestandtheilen:

…s …reas.	der Darmwand.		der Milz.		der Nieren.		des Herzens.		der Lungen.		der Oberschenkelmuskeln.		der Oberschenkelknochen.	
27,82	74,48	25,52	75,66	24,34	76,02	23,98	75,47	24,53	78,36	21,64	74,84	25,16	49,82	50,18
21,46	80,90	19,10	76,32	23,68	80,74	19.26	79,36	20,64	79,20	20,80	79,18	0,88	55,53	44,47
24,17	75,84	24,16	78.29	21,71	78,08	21,92	77,17	22.83	77,34	22,66	77,93	22,07	56,65	43,35
25,74	76,83	23,17	74,93	25,07	78,21	21,79	77,44	22,56	77,26	22,74	76.72	23,28	50,88	49,12
23,26	77,83	22,17	76,84	23,16	79,73	20,27	80,32	19,68	77,72	22,28	79,75	20,25	57,57	42,43
27,02	75,53	24,47	78,81	21,19	76,40	23,60	75,77	24.23	77,19	22,81	73,61	26,39	46,60	53,40
28,27	74,93	25,07	78,38	21,62	77,03	22,97	76,36	23,64	77,08	22,92	76,95	23.05	52,40	47,60
29,28	75,73	24,27	76,87	23,13	74,73	25,27	74,87	25,13	76,16	23,84	74,69	25,31	50,85	49,15
25,66	75,84	24,16	79,56	20,44	76,55	23,45	77.23	22,77	76,81	23,19	74,97	25,03	42,44	57,56
27.09	75 18	24,82	81,11	18,89	76,11	23,89	75,58	24,42	77,[illegible]8	22,42	73,40	26.60	37,59	62,41
25,98	76,31	23,69	77,68	22,32	77,36	22,64	76,96	23,04	77,47	22,53	76,20	23,80	50,03	49,97

Tabell

A.

Zahl der Thiere.	Geschlecht.	Mittleres Körpergewicht in gr.	Absolute (in gr.) und relative (in Procenten des Kö… gewichts) Organengewichte (mittlere Werthe): Herzkammern.	Gehirn.	Milz.	Pankreas.
10	M.	292,6	2,4104	1,9082	0,21115	1,13615
			0,82 %	0,65 %	0,07 %	0,39 %

C.

Zahl der Thiere.	Geschlecht.	Mittleres Körpergewicht in gr.	Bedeutung der horizontalen Reihe.	Herzkam…
20	M. und W.	274,6	Absolutes Gewicht (mittlere Werthe).	2,39…
			Relatives Gewicht (mittlere Werthe).	0,81…

Tabell

A.

Zahl der Thiere. Geschlecht.	Mittleres Initialgewicht des Körpers in gr.	Mittleres Terminalgewicht des Körpers in gr.	Absolute (in gr.) und relative (in Procenten des Initial- … minalkörpergewichts) Organengewichte (mittlere We…: Herzkammern.	Gehirn.	Milz.	Pankreas.
10 M.	299,3	188,8	2,02745	1,88095	0,03825	0,48225
			0,68 %	0,63 %	0,013 %	0,16 %
			1,07 %	1,00 %	0,020 %	0,26 %

C.

Zahl der Thiere. Geschlecht.	Mittleres Initialgewicht des Körpers in gr.	Mittleres Terminalgewicht des Körpers in gr.	Bedeutung der horizontalen Reihe.	Herzkam…
20 M. und W.	286,7	189,6	Absolutes Gewicht in gr. (mittlere Werthe).	1,9…
			Relat. Gewicht in % des Initialkörpergewichts (mittl. Werthe).	0,6…
			Relat. Gewicht in % d. Terminalkörpergewichts (mittl. Werthe).	1,04…

…lthiere.

B.

…	Geschlecht.	Mittleres Körpergewicht in gr.	Absolute (in gr.) und relative (in Procenten des Körpergewichts) Organengewichte (mittlere Werthe):				
			Herzkammern.	Gehirn.	Milz.	Pankreas.	Oberschenkelknochen.
	W.	256,5	2,3835	1,85055	0,1037	1,14305	0,762625
			0,81 %	0,63 %	0,035 %	0,39 %	0,23 %

C.

…e:

Gehirn.	Milz.	Pankreas.	Oberschenkelknochen.
1,879375	0,157425	1,1396	0,7587625
0,64 %	0,0525 %	0,39 %	0,245 %

…chsthiere.

B.

…ere. …cht.	Mittleres Initialgewicht des Körpers in gr.	Mittleres Terminalgewicht des Körpers in gr.	Absolute (in gr.) und relative (in Procenten des Initial- und Terminalkörpergewichts) Organengewichte (mittlere Werthe):				
			Herzkammern.	Gehirn.	Milz.	Pankreas.	Oberschenkelknochen.
	274	190,3	1,95095	1,88725	0,04480	0,53970	0,74170
			0,71 %	0,69 %	0,016 %	0,20 %	0,27 %
			1,03 %	0,99 %	0,024 %	0,28 %	0,39 %

C.

…e:

Gehirn.	Milz.	Pankreas.	Oberschenkelknochen.
1,88410	0,041525	0,510975	0,771055
0,657 %	0,0145 %	0,178 %	0,269 %
0,994 %	0,022 %	0,270 %	0,407 %

Tab

No. der Controlthiere.	Geschlecht.	Mittleres Körpergewicht in gr.	Mittlerer Pr						
			des Blutes.		des Gehirns.		der Thorax-muskeln.		
I—XX	M. u. W.	274,6	77,07	22,93	80,16	19,84	72,95	27,05	7
Mittelwerthe von Q			3,36		4,04		2,70		
Mittelwerthe von α			31,8		16,6		29,3		

B.

No. der Versuchsthiere. Geschlecht	Initial-	Terminal-	Absoluter (in gr.)	Relativer (in % des Initialgew.)	Mittlere Dauer des Versuchs in Stunden.	Mittlerer Pro						
	Körpergewicht in gr. (mittlere Werthe)		Gewichtsverlust (mittlere Werthe)			des Blutes.		des Gehirns.		der Thorax-muskeln.		
XXI—XV M. u. W.	286,7	189,6	97,1	33,8	152,7	77,44	22,56	79,78	20,22	73,25	26,75	72
Mittelwerthe von Q						3,43		3,95		2,74		
Mittelwerthe von α						46,1		21,0		45,6		

Anmerkung. Q bezeichnet das Verhältniss zwischen Wasser und
Differenzen zwischen den maximalen und minimalen Werthen von Q zu

Auf Grund der entsprechend verarbeiteten Versuchsergebnisse und des vergleichenden Studiums von Thieren beider angeführten Kategorien bin ich zu nachstehenden Schlussfolgerungen gelangt:

1. Organe und Gewebe bei hungernder und durstender Taube erleiden Veränderungen in ihrem Gehalte an Wasser und festen Substanzen selbst dann nur im mässigen Grade, wenn das Totalgewicht ihres Körpers dabei 34% einbüsst und das Thier im Laufe von 153 Stunden gar keine feste Nahrung und kein Wasser bekommt.

2. Die von mir untersuchten Körpertheile, welche ihre anfängliche Zusammensetzung gegenüber Hunger und Durst im Allgemeinen mit grosser Zähigkeit behaupten, werden durch dasselbe weder in gleichem Maasse, noch in gleichem

ontrolthiere.

lt an Wasser und festen Bestandtheilen:

eas.	der Darmwand.		der Milz.		der Nieren.		des Herzens.		der Lungen.		der Oberschenkelmuskeln.		der Oberschenkelknochen.	
4,71	76,53	23,47	78,90	21,10	77,41	22,59	77,14	22,86	78,08	21,92	74,86	25,14	46,48	53,52
05	3,26		3,74		3,43		3,37		3,56		2,98		0,87	
3	51,8		34,5		27,7		23,1		18,3		37,6		83,9	

sthiere.

lt an Wasser und festen Bestandtheilen:

eas.	der Darmwand		der Milz.		der Nieren.		des Herzens.		der Lungen.		der Oberschenkelmuskeln.		der Oberschenkelknochen.	
5,92	76,21	23,79	78,22	21,78	77,55	22,45	77,05	22,95	77,67	22,33	76,57	23,43	51,52	48,48
36	3,20		3,59		3,45		3,36		3,48		3,27		1,06	
4	43,1		43,2		35,7		32,7		27,6		38,5		83,0	

ndtheilen. Unter α sind die in % der Mittelwerthe von Q ausgedrückten
n.

Sinne beeinflusst; die Einwirkung der Inanition auf die Zusammensetzung der Organe und Gewebe darf keineswegs völlig indifferent genannt werden.

3. Bei einem Theil der zur Untersuchung genommenen Objecte lässt sich hinsichtlich ihrer Zusammensetzung ein status quo ante feststellen, bei einem anderen bemerkt man die Neigung, den Wassergehalt zu vergrössern, bei wiederum anderen sehen wir eine mehr oder weniger beträchtliche Abnahme desselben. Zur ersten Kategorie gehören: der Herzmuskel, die Nieren, die Thoraxmusculatur, der Darmtractus, das Blut, das Gehirn und die Lungen; zur zweiten — die Oberschenkelmuskeln und die Oberschenkelknochen; zur dritten — die Milz, das Pankreas, die Leber.

4. Die Zahlen, welche für die am meisten veränderlichen Organe ermittelt wurden, berechtigen uns zur Behauptung, dass weder das Geschlecht, noch das Anfangsgewicht des Körpers dem typischen Gange der durch complete Inanition bedingten Veränderungen ein specifisches Gepräge aufdrückt.

5. Ordnen wir die Organe und Gewebe in ansteigender Reihe nach der Zahl Q, welche das Verhältniss zwischen Wasser und festen Bestandtheilen in denselben ausdrückt, so ergiebt sich bei hungernden und durstenden Individuen ein System von Werthen, welches von demjenigen der normalen abweicht.

6. Mit besonderer Zähigkeit behaupten ihren Platz in diesem Systeme diejenigen Organe, deren Q dasjenige des Blutes übertrifft; hierher gehören ganz vorzüglich die Nieren, die Lungen, die Milz und das Gehirn.

7. Bei completer Inanition stossen wir in der Mehrzahl von Organen auf viel ausgiebigere individuelle Abweichungen von den mittleren Werthen, welche die hier besprochenen Verhältnisse ausdrücken, als unter normalen Bedingungen; das Gegentheil wird nur bei Leber und Darmtractus beobachtet; das Pankreas und die Oberschenkelknochen weisen in beiden Kategorien gleich grosse Schwankungen auf.

8. Wenn wir die untersuchten Körpertheile nach der Zahl α, welche den Grad der individuellen Abweichungen der bezüglichen Werthe von den Mittelwerthen darstellt, in eine ansteigende Reihe gruppiren, so erhalten wir zwei Systeme, welche von einander verschieden sind, je nachdem das Thier gehungert und gedurstet hat, oder sich in normalen Ernährungsverhältnissen befand. Nur die Endglieder in den obigen Reihen beider Kategorien, id est das Gehirn und die Oberschenkelknochen, und ein Glied von den mittleren — die Milz — behaupten einen und denselben Platz.

9. Während die Herzkammern, das Pankreas und die Milz bei hungernden und durstenden Tauben 14,8%, 54,4%, resp. 72,4% ihres ursprünglichen relativen Gewichtes einbüssen, wird beim Gehirn und den Oberschenkelknochen eine Zunahme desselben beobachtet, welche 2,7%, resp. 9,8% beträgt.

10. Die Zahlen, welche das Verhältniss des Gewichtes einzelner Organe zu demjenigen des ganzen Körpers im Augenblick der Tödtung ausdrücken, differiren bei hungernden und durstenden gegenüber den normalen Tauben recht erheblich und zwar derart, dass die relativen Gewichte der Herzkammern, des Gehirns und der Oberschenkelknochen bei der Inanition eine Zunahme von 28,7%, 55,3%, resp. 66,1% aufweisen, während bei denjenigen des Pankreas und der Milz sich eine Abnahme von 30,8%, resp. 58,1% äussert.

11. Der Typus, nach welchem die relativen Gewichte der Organe bei hungernden und durstenden Tauben sich verändern, ist sowohl bei Männchen als bei Weibchen ein und derselbe, da die notirten Abweichungen fast ausschliesslich die Grösse der Werthe, nicht aber den eigentlichen Charakter der Veränderungen betreffen; besonders scharf tritt der Umstand hervor, dass die Milz bei Männchen mehr an relativem Gewicht verliert, als bei Weibchen, die Oberschenkelknochen dagegen bei den letzteren mehr an relativem Gewicht gewinnen, als bei den erstgenannten.

12. Die Schwankungen, welchen die relativen Gewichte der Organe bei completer Inanition unterworfen sind, und die Schwankungen, welche die Werthe Q bei derselben erleiden, sind Erscheinungen, die von ganz verschiedenen Gesetzmässigkeiten abhängen.

Sowohl die eingehende Begründung der angeführten Sätze, als auch die Beurtheilung einzelner belangreicher Thatsachen und verschiedene Literaturangaben wurden von mir an einer anderen Stelle niedergelegt[1]).

Anhangsweise füge ich noch eine Tabelle hinzu, welche Bestimmungen enthält, die die Organe und Gewebe zweier bis zum Tode hungernder und durstender Tauben betreffen[2]).

---

[1]) L. c.

[2]) Diese analytischen Daten sind nicht in der oben angeführten Zahl 480 enthalten. In allen oben besprochenen Versuchen habe ich ohne den spontanen Tod abzuwarten die Thiere getödtet, um einer postmortalen Imbibition der Gewebe auszuweichen.

No. des Versuchsthieres. Geschlecht	Initial- Körpergewicht in gr.	Terminal- Körpergewicht in gr.	Absoluter Gewichtsverlust in gr.	Relativer Gewichtsverlust in °/o des Initialgew.	Dauer des Versuchs in Stunden.	Procent… des Blutes.		des Gehirns.		der Thoraxmuskeln.		L…
XLI M.	288	159	129	44,8	156 + x	—	—	82,44	17,56	76,31	23,69	75,[illegible]
XLII W.	242	149	93	38,4	132 + x	—	—	80,79	19,21	76,32	23,68	74,[illegible]

sser und festen Bestandtheilen:

s.	der Darmwand.		der Milz.		der Nieren.		des Herzens.		der Lungen.		der Oberschenkelmuskeln.		der Oberschenkelknochen.	
44	82,67	17,33	79,66	20,34	79,05	20,95	79,39	20,61	74,49	25,51	77,11	22,89	56,17	43,83
67	78,65	21,35	80,39	19,61	81,58	18,42	79,73	20,27	76,51	23,49	79,16	20,84	52,64	47,36

Zur Biologie der normalen Milchkothbacterien.

II. Mittheilung.

Von

Dr. Adolf Baginsky.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts in Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 10. December 1888.)

Bacterium coli commune ist in den Fäces von Kindern, welche an der Frauenbrust genährt werden, ausserordentlich verbreitet. Seine morphologischen und theilweise auch biologischen Eigenschaften sind von Escherich[1]) studirt. Die ersteren haben uns hier nicht zu beschäftigen, bezüglich der letzteren betont Escherich das Vermögen, die Milch unter Säurebildung zwar zur Gerinnung zu bringen, indess langsamer, als das von ihm als B. lactis aërogenes bezeichnete Bacterium, dessen biologisches Verhalten Gegenstand meiner ersten Mittheilung gewesen ist[2]). Das Bacterium coli soll eine specifische Gährwirkung auf Milchzucker nicht äussern, dagegen u. z. selbst in der Anaërobiose Traubenzuckerlösungen vergähren, in Summa sollen indess die gährungserregenden Eigenschaften des Colonbacterium hinter denen des B. lactis zurückstehen.

Die Versuchsanordnungen sind in der nachfolgenden Studie genau dieselben geblieben, wie früher, auch da, wo es sich um die Prüfung des biologischen Verhaltens gegenüber den Nährlösungen in der Anaërobiose handelt. Es kann deshalb auf die erste Mittheilung verwiesen werden. Grösste

---

[1]) Die Darmbacterien des Säuglings.

[2]) Diese Zeitschrift. Bd. XII, S. 434.

Sorgfalt wurde, wie bei derartigen Versuchen selbstverständlich, dem Nachweis gewidmet, dass in dem Verlaufe des Versuches die Reincultur erhalten blieb, ein Nachweis, der jedes Mal unter Anwendung des Koch'schen Plattenverfahrens geführt wurde.

Bringt man B. coli in sterilisirte Milchzuckerlösung, welcher ein stickstoffhaltiger Körper nicht hinzugesetzt worden ist, so bleibt eine Vergährung des Milchzuckers völlig aus. Weder Säurebildung noch Gasbildung findet statt; dem entsprechend scheint eine Vermehrung des Bacterium völlig auszubleiben. In sterilisirter Milch sieht man selbst bei Brütofentemperatur von 36° C. erst nach mehreren Tagen Gerinnung eintreten und diese Gerinnung entspricht nicht völlig der unter Einwirkung von B. lactis s. aceticum stattfindenden. Das Gerinnsel ist weniger massig und dicht, mehr locker und kleinflockiger.

Soweit decken sich meine Beobachtungen mit den schon erwähnten.

Wird B. coli in sterilisirte Milchzuckerlösung, der eine geringe Quantität eines Eiweisskörpers, am besten Pepton, hinzugesetzt worden ist, eingebracht, so erfolgt bei Brütofentemperatur von 36° C. schon innerhalb der ersten 24 Stunden Trübung, mässige Gasbildung, und es ist durch Prüfung an Lacmuspapier intensive Säurebildung nachweisbar. Es ist augenscheinlich eine Vergährung des Milchzuckers erfolgt unter gleichzeitiger intensiver Vermehrung des Bacterium, welches auf den Gelatineplatten schon ohne eingehende Zählung der aufgegangenen Colonien aus dem blossen Augenschein zu constatiren war. Es ist sonach zur Entwickelung der Gährwirkung des Bacterium auf Milchzucker die Anwesenheit eines stickstoffhaltigen Nährmittels nothwendig. Die Gährwirkung erfolgt bei Gegenwart desselben ebenso unter Sauerstoffzutritt, wie unter völligem Abschluss desselben.

Die vielfach angestellten Versuche erwiesen sich nach der angegebenen Richtung stets eindeutig.

Aus Amylum bildete B. coli weder unter Luftzutritt, noch in der Anaërobiose Zucker, selbst dann nicht, wenn

dem sterilisirten Stärkekleister eine stickstoffhaltige Substanz, wie Bouillon oder Pepton, hinzugefügt worden ist.

Gegenstand besonderer Untersuchung war die Feststellung der bei Gegenwart von Pepton und der zweckentsprechenden Nährsalze von B. coli aus Milchzucker gebildeten Säure. Die Nährlösung war hier, ähnlich wie in den früheren Untersuchungen, folgendermassen zusammengesetzt:

Wasser	750 cbcm.,
Milchzucker	25—35 gr.,
Pepton	5 gr.,
Kaliumphosphat	1,5 gr.,
Calciumchlorid	0,15 gr.,
Schwefels. Magnesia	0,3 gr.,

eine entsprechende Menge Calciumcarbonat.

Das Gemisch wurde in 3 auf einander folgenden Tagen je 3 Stunden im Dampfstrom sterilisirt, abgekühlt, mit B. coli geimpft und bei 36° C. im Brütofen belassen. — Die Untersuchung der bei der Gährung entstandenen Producte geschah wie früher (S. 441 Bd. XII dieser Zeitschrift) angegeben wurde. — Die eingetretene Gährung konnte in der Regel schon nach 24 Stunden durch Trübung der ursprünglich klar durchsichtigen röthlichen Flüssigkeit, durch Auftreten vereinzelter Gasblasen an die Oberfläche constatirt werden. Die Gasbildung pflegte allerdings in den nächstfolgenden Tagen zu sistiren, so dass eine weitere Veränderung der Flüssigkeit in dem äusseren Ansehen nicht wahrnehmbar war.

Versuch I. Dauer der Gährung 24 Tage.

Das ohne Zusatz von Säure gewonnene Destillat ergibt mit Natronlauge und Jodjodkaliumlösung geringe Mengen von Jodoform. Zu weiteren Prüfungen reicht die gewonnene Menge nicht aus.

Das nach Zusatz von Salzsäure gewonnene Säuredestillat ergab als Barytsalz folgende Zahlen:

0,4709 Barytsalz als $BaCO_3$ bestimmt ergab 0,3641 $BaCO_3$ = 53,79 % Ba. Essigsäure verlangt = 53,72 %.

Es war sonach eine Säure gebildet worden, welche in ihrem Bindungsvermögen der Essigsäure entsprach.

0,2186 des Salzes wurde zur C-, H-Bestimmung genommen. Es wurde gefunden: CO_2 = 0,1243 = 15,48 % C.
H_2O = 0,0559 = 2,83 % H.

Essigsäure verlangt im Bariumsalz $Ba(C_2H_3O_2)_2$:
C = 18,82 %,
H = 2,53 %.

Die Zahlen der Elementaranalyse decken sich sonach nicht mit denjenigen der Essigsäure. Wir werden später auf diesen Umstand zurückkommen.

Versuch II. Wesentlich dieselbe Anordnung. Dauer der Gährung 10 Tage.

Wiederum geht in das erste Destillat eine mit Jodjodkalium und Natronlauge Jodoform bildende Substanz über.

Von der übergehenden Säure bei der zweiten Destillation wurde das Baryumsalz gewonnen.

0,4032 desselben ergaben bei der Bestimmung als $BaCO_3$ = 0,3096 = 53,39 % Ba.
Essigsäure verlangt 53,72 %.

Das Salz gibt mit Eisenchlorid die für Essigsäure charakteristische Reaction; mit Alkohol und concentrirter Schwefelsäure tritt der Geruch nach Essigäther auf; endlich lässt sich auch mit $AgNO_3$ das charakteristische Silbersalz darstellen, nur stellt sich dabei heraus, dass das Salz rapid reducirt wird und sich schwarz färbt. Es ist also dem essigsauen Salz eine intensiv reducirende Substanz noch beigemischt.

Versuch III. Dieselbe Anordnung. Dauer der Gährung 12 Tage.

Die Gährung geht in den ersten Tagen unter reichlicher Gasbildung vor sich.

Das erste Destillat ergibt wieder die Jodoform bildende Substanz. Dasselbe hat indess auch die Eigenschaften, geringe Mengen frisch gefällten Quecksilbers rapid zu lösen und ergibt mit Nitroprussidnatrium und NaOH eine sehr flüchtige vergehende Rothfärbung. Danach ist die gebildete Substanz als Aceton anzusprechen, welches in kleinen Mengen gebildet worden ist.

Weiterhin unter Säurezusatz destillirt gehen in das Destillat geringe Spuren einer auf der Oberfläche schwimmenden und weisse Häutchen bildenden Substanz über (Fettsäuren?).

Das Barytsalz der in das Destillat übergegangenen Säuren wird mit H_2SO_4 zerlegt, das gebildete schwefelsaure Barium abfiltrirt und das Destillat mit dem geringen Ueberschuss von Schwefelsäure nochmals der Destillation unterworfen. Aus der übergehenden Säure wird neuerdings das Bariumsalz gebildet, das so sehr rein weiss gewonnen wird.

0,9532 des Salzes ergaben beim Verglühen an $BaCO_3$ = 0,7604 = 55,47 %.
Essigsäure verlangt 53,72 %.

Das Salz gibt mit Eisenchlorid und mit Alkohol und Schwefelsäure die der Essigsäure charakteristischen Reactionen: beim Versuch, das Silbersalz darzustellen, reducirt sich dasselbe augenblicklich; also auch hier wieder die schon im vorigen Versuch gekennzeichnete Eigenschaft, die dieses Mal zusammenfällt mit einer höheren Ziffer des Bariumgehaltes in dem Salze, als der Essigsäure entspricht.

Die Elementaranalyse des stark reducirten Silbersalzes ergab Folgendes:

0,9000 deselben ergaben:

CO_2 = 0,0576 = 17,44 % C,
H_2O = 0,0210 = 2,59 % H.

Essigsäure verlangt im Silbersalz:

C = 14,37 %,
H = 1,79 %.

Sonach war klar, dass dem essigsauren Salz das Salz einer stark reducirenden Säure beigemischt war, welche einen höheren Barium- und Silbergehalt beansprucht, als die Essigsäure. Die energisch reducirende Eigenschaft dieser vermutheten Säure liess von vornherein den Verdacht aufkommen, dass es sich um Ameisensäure handelte. Es war aber nicht möglich, noch in diesem Falle dies festzustellen.

Der nach der Destillation im Kolben zurückgebliebene Rest wurde nach dem früher beschriebenen Verfahren (s. 1. Mit-

theilung, S. 442) auf den Gehalt an Milchsäure untersucht. Es wurde ein Zinksalz gewonnen, welches sich in seinem krystallinischen Aussehen durchaus wie milchsaures Zinkoxyd verhielt. Es waren nadelförmige Säulchen mit schrägen Endflächen. Dieselben verloren bei 115° getrocknet = 17,82% Krystallwasser.

Die Elementaranalyse des Salzes ergab Folgendes:

0,246 gr. des Zinksalzes ergaben:

0,2673 CO_2 = 29,59% C,
0.0986 H_2O = 4,43% H.

Michsaures Zinkoxyd verlangt:

C = 29,50%,
H = 4,10%.

Sonach kann es keinem Zweifel unterliegen, dass die aus dem Rückstande des Destillates gewonnene Säure Milchsäure war.

Versuch IV. Dieselbe Anordnung des Versuchs.

Die Gährung verlief unter geringer Gasbildung; die Gährflüssigkeit trübte sich indess sehr intensiv. Die Gährung wurde 22 Tage unterhalten.

Wiederum trat in dem ersten Destillat die Jodoform bildende Substanz in geringen Spuren auf. Bei der Destillation unter Zusatz von H_2SO_4 ging wiederum eine ganz geringe Menge einer auf der Oberfläche schwimmenden, ein weisses Häutchen bildenden Säure über.

Das dargestellte Bariumsalz wurde durch H_2SO_4 nochmals zerlegt; von Neuem die Säuren der Destillation unterworfen und das Bariumsalz gebildet.

Die Bariumbestimmung ergab folgende Zahlen:

1,0943 des Bariumsalzes als $Ba.CO_3$ bestimmt ergab 0,8739 = 55,53% Ba.

Nach mehrmaligem Umkrystallisiren ergab die Wiederholung der Bestimmung:

0.6432 des Bariumsalzes an $Ba.CO_3$ = 0,5166 = Ba 55,85%.

Das Mittel aus beiden Bestimmungen wäre = 55,69. Diese Zahl übertrifft aber den dem essigsauren Salz zukommenden Bariumgehalt um nahezu 2%.

Das Bariumsalz gab alle der Essigsäure zukommenden Reactionen, nur stellte sich beim Versuch der Darstellung des Silbersalzes eine fast augenblickliche intensive Reduction des Silbersalzes heraus, so dass diese Thatsache zusammengehalten mit dem höheren Bariumgehalt wiederum den Verdacht einer Beimischung des ameisensauren Bariumsalzes zu dem essigsauren erweckte. Es wurde versucht, das vermuthete ameisensaure Salz zu gewinnen oder besser die vermuthete Ameisensäure in einem zweckentsprechenden Salze nachzuweisen. Dazu eignet sich nun, wegen der besonderen Löslichkeitsverhältnisse gegenüber den essigsauren Salzen vorzugsweise das Bleisalz. — Der Rest des Bariumsalzes wurde durch Schwefelsäure zerlegt, der schwefelsaure Baryt abfiltrirt. Das Filtrat im verschlossenen Kolben langsam mit hinzugesetztem Bleioxyd erwärmt; das Ganze zur Trockne eingedampft und mit Alkohol sorgfältig extrahirt. Das essigsaure Salz ist in Alkohol löslich, nicht so das ameisensaure Bleioxyd, welches im Rückstande bleibt. Der Rückstand wurde mit Wasser aufgenommen, filtrirt. Das Filtrat musste das ameisensaure Bleioxyd enthalten. Dies im Wasser gelöste Bleisalz wurde mit H_2S zerlegt, Schwefelblei entfernt und durch Zusatz von Bariumhydrat neuerdings das Bariumsalz dargestellt. Es wurde nur eben so viel genommen, um einige Reactionen zu machen.

Das gewonnene Bariumsalz gab mit Eisenchlorid eine rothbraune Farbe.

Ein Tropfen des gelösten Salzes reducirte hinzugefügtes salpetersaures Silber augenblicklich.

Damit war mit ziemlicher Sicherheit festgestellt, dass das in Ag. übergegangene Salz Ameisensäure enthielt.

Mit dem anderen, als essigsaures Bleioxyd angesprochenen Salz war in der gleichen Weise verfahren worden. Das so gewonnene Barytsalz gab alle früher erwähnten, der Essigsäure zukommenden Reactionen, so dass die Anwesenheit der Essigsäure damit ebenfalls festgestellt war.

In dem von der Destillation verbliebenen Rest wurde nach Milchsäure gesucht. Es wurde auf dem schon bekannten

Wege ein Zinksalz dargestellt mit folgenden Eigenschaften. Die Krystallform entsprach dem Zinksalz der Milchsäure.

Der Gehalt an Krystallwasser betrug 17,93%. Von demselben ergab die Elementaranalyse Folgendes:

0.2580 des Salzes ergaben: CO_2 = 0,2749,
H_2O = 0,0985.

Dies entspricht: C = 29,05%,
H = 4,24%.

Milchsaures Zinkoxyd verlangt:
C = 29,50%,
H = 4,10%.

Es kann sonach wohl keinem Zweifel unterliegen, dass man es mit Milchsäure in dem Gährungsrückstande nach der Destillation zu thun gehabt habe. Sonach sind als Producte der Vergährung des Milchzuckers unter der Einwirkung des B. coli mit Sicherheit erwiesen:

Essigsäure,
Ameisensäure,
Milchsäure.

Versuch V. Der folgende Versuch wurde unter Ausschluss von Sauerstoffzutritt (Anaërobiose) durchgeführt. Die Anordnung war genau die in meiner ersten Mittheilung angegebene (s. l. c., S. 444). Die der Gährung unterworfene Mischung, wie oben. Man beobachtet im Gährkolben am zweiten Tage des Versuches reichlich Gasblasen auf der Oberfläche, die später in spärlicherer Weise sich sehen liessen, und im weiteren Verlaufe wurde schliesslich nur noch die Trübung des Gemisches, ohne dass Gasblasen sich bemerkbar machten, beobachtet.

Die Gährung wurde 20 Tage unterhalten.

Das Destillat, welches ohne Säurezusatz gewonnen wurde, enthielt nur geringe Spuren der Jodoform bildenden Substanz.

Das nach Zusatz von HCl gewonnene Destillat wurde wie früher mit Bariumhydrat versetzt, eingedampft, sodann durch Schwefelsäure zerlegt und nach Entfernung des schwefelsauren Baryt nochmals destillirt und in das Bariumsalz verwandelt, ergab sich schliesslich ein weisses Salz, welches bei der Verbrennung folgende Zahlen gab:

0,2254 des Bariumsalzes gaben 0,1796 $Ba.CO_3$ = Ba 55,41 %.
Essigsäure verlangt 53,72 %,
Ameisensäure verlangt 60,35 %.

Danach war zu erwarten, dass das gefundene Salz wieder eine Mischung von den Salzen beider Säuren darstellt. Das Salz verhielt sich wie die früheren, gab deutlich die Essigsäurereactionen, reducirte auch Silberoxyd rapid.

Trotz der gewonnenen Kenntniss, dass eine Mischung zweier Salze in dem gewonnenen Präparat vorlag, wurde ein Theil derselben der Elementaranalyse unterworfen.

Dieselbe ergab Folgendes:

0,2581 der Substanz ergaben:
CO_2 = 0,1278 = C = 13,50 %,
H_2O = 0,0550 = H = 2,36 %.
Es verlangen: essigsaures Barium = C = 18,82 %,
= H = 2,53 %,
ameisensaures Barium = C = 10,57 %,
= H = 0,87 %.

Sonach ging auch aus der Elementaranalyse mit einiger Wahrscheinlichkeit hervor, dass die Substanz ein Gemisch aus ameisensaurem und essigsaurem Barium war.

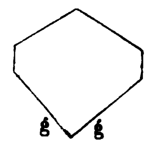
Auf dem schon oben angeführten Wege wurde versucht, das ameisensaure Bleisalz rein zu gewinnen. Es wurde in geringer Menge eine in durchsichtigen schönen Säulchen krystallisirte Substanz gewonnen, welche folgende Eigenschaften hatte:

1. Mit Eisenchlorid gaben die Krystalle eine braunrothe Farbe;
2. Die Kryställchen reducirten intensiv und rapid salpetersaures Silberoxyd.

Sonach war auch hier mit einiger Sicherheist festgestellt, dass es sich um ameisensanres Bleioxyd handelte.

Es gelang aber überdies, die Form der gebildeten Krystalle krystallographisch festzustellen. Die krystallographische Untersuchung wurde von Herrn Dr. Scheibe, Docent und Assistent an der Kgl. Bergakademie zu Berlin, ausgeführt, dem ich hierfür den besten Dank abzustatten Gelegenheit nehme. Das Gutachten des Herrn Dr. Scheibe lautet wortgetreu folgendermassen:

Bleisalz des Herrn Dr. Baginsky.

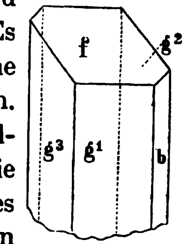


«Farblos, dünnsäulig, meist 4seitig, selten «6seitig von Umriss, dann 2 Seiten sehr schmal «(s. Querschnitt). Optisch als rhombisch kry-«stallisirend charakterisirt.

«Messungen von Säulenwinkeln:

Krystalle 1: 107° 26′ = g : g.
» 2: 106° 12′ = g : g.
» 3: 107° 15′ = g : g.
» 4: 107° —′ ca. = g : g.

«Diese Krystalle hatten keine Endflächen und waren «alle zum Theil von einer zähen schleimigen Substanz, wohl «einer Art Mutterlauge, bedeckt. Deshalb sind «die Messungen nicht gut übereinstimmend. Es «gelang dann, einen glatten, mit einer Endfläche «versehenen Krystall zu finden und zu messen. «Optisch auch als dem rhombischen Krystall-«system angehörend charakterisirt, weil die «Schwingungsrichtungen des polarisirten Lichtes «parallel zu den Kanten g : g verlaufen (auf allen «Säulenflächen g). Gemessen wurde (wobei sich die Reflexe «des Signals vom Goniometer als klar und einfach ergaben):



$g^1 : f = 112^\circ\ 43'$
$g^2 : f = 113^\circ\ 1'$
$g^1 : g^2 = 72^\circ\ 43'$
und $72^\circ\ 44'$
$g^1 : g^3 = 107^\circ\ 26'$
und $107^\circ\ 38'$
$g^1 : b = 126^\circ\ 30'$
$b : g^2 = 126^\circ\ 13'$

«Daraus folgt, dass Fläche f ein Brachydoma ($\infty a : b : c$) « $= P\breve{\infty}$ ist, Fläche g^1, g^2, g^3 sind aufrechte Säulen ($a : b : \infty c$) « $= \infty P$ und b ein Brachypinakoid ($\infty a : b : \infty c$) $= \infty P\breve{\infty}$.

«Als Mittelwerthe ergibt sich aus den Messungen:

$g : f = 112^\circ\ 52'$
$g : g = 107^\circ\ 24'$
vorn
$g : g = 72^\circ\ 36'$
über b.

«Die entsprechenden Werthe nach Heuser für ameisen-
«saures Blei sind:

112° 35′ 35″
106° 32′
73° 8′

«Die Ergebnisse der Messungen und der optischen Unter-
«suchung bestätigen, dass das vorliegende Salz krystallo-
«graphisch von ameisensaurem Blei nicht verschieden ist,
«und demnach wohl solches sein wird.

«Berlin, 7. August 1888. Dr. Scheibe.»

Damit war also die Anwesenheit der Ameisensäure sichergestellt, ein Befund, den Brieger auch als Product der Vergährung der Kohlenhydrate durch den Pneumonicum erwähnt[1]. Es wurde nunmehr noch versucht, das essigsaure Bariumsalz möglichst rein zu gewinnen. Es wurde das gewonnene essigsaure Bleisalz nochmals mittelst H_2S zerlegt, das Schwefelblei entfernt und das Bariumsalz der Säure dargestellt. Dasselbe wurde im Schiffchen der Elementaranalyse unterworfen.

0,2434 der Substanz ergaben:

$Ba.CO_3$ = 0,1985 = 53,81 % Ba,
CO_2 = 0,1656 = 18,55 % C,
H_2O = 0,0517 = 2,35 % H.

Essigsaures Barium verlangt: Ba = 53,72 %,
C = 18,82 %,
H = 2,53 %.

Es ist sonach ausser allem Zweifel, dass Essigsäure gebildet worden war und das zuerst gewonnene Salzgemisch zum grossen Theile essigsaures Barium enthielt.

Es erübrigt, mit wenigen Worten auf das Verhältniss der beiden, in den normalen Fäces gefundenen, auch an der Mutterbrust ernährter Kinder von Escherich beschriebenen Bacterienformen zurückzukommen.

Ein wesentlicher Unterschied der Wirkungsweise der beiden Bacterienformen gegenüber den Kohlenhydraten und speciell gegenüber dem in der Milch vorhandenen Milchzukcer liegt wohl nur darin, das B. lactis (Escherich) oder B. aceti-

[1]) Brieger, Zeitschr. f. physiolog. Chemie, Bd. 8, S. 310.

cum, wie ich es lieber nennen möchte, vorzugsweise Essigsäure bildet, während B. coli neben der Essigsäure erhebliche Mengen von Milchsäure und Ameisensäure bei der Vergährung entstehen lässt. Bei der Wirkung des B. coli scheinen auch überdies geringe Mengen anderer Fettsäuren (Propionsäure, Buttersäure) zu entstehen, und dies erklärt uns den oben erwähnten (S. 355) auffallenden Befund, dass trotz der für essigsaures Barium sprechenden Zahl des gefundenen Barium die Elementaranalyse damit nicht übereinstimmende Zahlen ergab.

Im Wesentlichen schliessen sich so die unter der Einwirkung der Bacterien im Darmkanal vor sich gehenden Spaltungsvorgänge, soweit wenigstens Kohlenhydrate in Frage kommen, nach den vorliegenden Ergebnissen den bekannten, neuerdings von Hoppe-Seyler so eingehend studirten Fäulnissvorgängen an.

Es ist hier der Ort nicht, die Bedeutung der Bildung von Ameisensäure im kindlichen Darmkanal für die Pathogenese gewisser Verdauungsstörungen genauer zu erörtern. Ich habe auf die, durch die Anwesenheit der Essigsäure bedingten, physiologischen und pathologischen Vorgänge im kindlichen Darmtractus schon ausführlich[1]) hingewiesen. Was von der Essigsäure gesagt ist, gilt für die Ameisensäure wohl noch in höherem Maasse. Nach den Untersuchungen von Bokai[2]) kann es keinem Zweifel unterliegen, dass die Ameisensäure eine intensive Reizwirkung auf die Darmwand ausübt, die Peristaltik anregt und zu katarrhalischen Veränderungen der Schleimhaut Anlass gibt. Man wird somit für eine gewisse Reihe von Diarrhöen, welche bei Kindern zur Beobachtung kommen, nicht nöthig haben, nach specifischen Krankheitserregern zu suchen; es kann vielmehr als sicher vorausgesetzt werden, dass die in der Norm dauernd anwesenden Bacterien im Stande sind, als Krankheitserreger bei gewissen Diarrhoeen der Kinder zu functioniren. Ueber die, auf der anderen Seite, durch dieselben Bacterien bis zu einem gewissen Grade

[1]) Vortrag in der Berliner medic. Gesellschaft. Deutsche med. Wochenschrift, 1888, Nr. 20, 21.

[2]) Archiv f. experimentelle Pathologie, 1888, Bd. 24, S. 158.

ausgeübte Prophylaxe gegenüber den Bacterien der alkalischen, fauligen Gährung habe ich in dem oben citirten Vortrage ausführlich gesprochen.

Die Entstehung der genannten Säuren, insbesondere der Ameisensäure und Essigsäure durch die Vergährung des Milchzuckers im Darm hat überdies noch eine besondere physiologische Bedeutung. Schon seit langer Zeit kennt man die Anwesenheit von flüchtigen Fettsäuren, insbesondere Essigsäure und Ameisensäure im frischen Harn; genauer studirt ist dieselbe in der jüngeren Zeit von v. Jaksch[1]. Schotten[2] hat nun den Nachweis geführt, dass bei Verfütterung von Essigsäure und Ameisensäure dieselben durch den Harn wieder zum grossen Theile ausgeschieden werden, und zu den gleichen Resultaten sind Gréhant und Quinquaud[3] gelangt. Damit ist die Thatsache höchst wahrscheinlich gemacht, dass auch im Darmkanal entstehende flüchtige Fettsäuren resorbirt und im Harn wieder erscheinen werden. Man wird sonach nicht fehl gehen, eine Quelle der im normalen Harne auftretenden Ameisensäure, Essigsäure und wahrscheinlich auch der anderen beobachteten Fettsäuren in der nachgewiesenen, durch die normalen Milchkothbacterien eingeleiteten Vergährung der Kohlenhydrate und bei Milchnahrung des Milchzuckers zu suchen.

Einige Versuche, welche ich schliesslich in der Absicht angestellt habe, zu ermitteln, ob B. coli aus N-haltigen Substanzen Toxine zu bilden im Stande sei, haben zu negativen Resultaten geführt. Weder aus 10% Bouillon-Gelatine, noch aus der Milch konnten nach längerdauernder Einwirkung des B. coli in der Reincultur Substanzen gewonnen werden, welche auf Thiere giftige Wirkungen auszuüben vermochten. Auch die einfachsten Producte der Eiweisszersetzung, wie Phenol oder Indol, waren in den inficirten Nährlösungen nach tagelangem Aufenthalt im Brütofen nicht nachweisbar.

---

[1]) S. diese Zeitschrift, Bd. 10, S. 537. Daselbst auch die genaueren Literaturangaben.

[2]) Diese Zeitschrift, Bd. 7, S. 383.

[3]) Compt. rend., Bd. 104, S. 437, u. Chem. Berichte, Ref., Bd. 20, S. 174.

Ueber den Lecithingehalt der Pflanzensamen.

Von

E. Schulze und **E. Steiger.**

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaction zugegangen am 8. Januar 1889.)

Zu den Substanzen, welchen man grosse Verbreitung im pflanzlichen wie im thierischen Organismus zuschreibt, gehört das Lecithin. Allerdings hat man dasselbe, so viel wir wissen, aus den Pflanzen bis jetzt noch nicht rein dargestellt; für sein Vorhandensein in denselben spricht aber nicht nur die Thatsache, dass die ätherischen Extracte aus Pflanzensamen, Knospen u. s. w. in der Regel Phosphor enthalten, sondern auch der vor Kurzem durch H. Jacobson[1]) erbrachte Nachweis, dass unter den beim Verseifen von Pflanzenfetten entstehenden Producten auch Cholin, das bekannte Zersetzungsproduct des Lecithins, sich vorfindet.

Den Lecithingehalt der Pflanzensamen hat man aus der Phosphormenge berechnen wollen, welche in den ätherischen Samen-Extracten enthalten ist — wobei man selbstverständlich die Voraussetzung machte, dass in diesen Extracten ausser Lecithin keine Phosphor-Verbindung sich vorfindet. Bestimmungen des Phosphorgehalts der Aether-Extracte aus Pflanzensamen sind z. B. von Töpler[2]) ausgeführt worden. Die von Demselben gefundenen Zahlen und die daraus sich

---

[1]) H. Jacobson, Ueber einige Pflanzenfette. Inaugural-Dissertation, Königsberg 1887; diese Zeitschrift, Bd. 13, S. 32.

[2]) Jahresbericht für Agriculturchemie, 1861—1862, S. 57.

berechnenden Lecithinquantitäten[1]) sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellt:

	P in % des Aetherextracts:	Lecithin in % des Aetherextracts:
Lupinen	0,29	7,55
Erbsen	1,17	30,46
Pferdebohnen	0,72	18,75
Wicken	0,50	13,02
Winterlinsen	0,39	10,15
Engl. Weizen	0,25	6,51
Helena-Weizen	0,28	7,29
Roggen	0,31	8,07
Gerste	0,28	7,29
Hafer	0,44	11,49
Rosskastanien	0,30	7,81

Nimmt man an, dass der Fettgehalt der von Töpler verwendeten Samen mit den in den Wolff'schen Tabellen[2]) angegebenen Durchschnittswerthen übereinstimmte, so berechnen sich für den Lecithingehalt der lufttrocknen Samen folgende Procentzahlen[3]):

Lupinen	0,37 % [4])
Erbsen	0,61 »
Pferdebohnen	0,30 »
Wicken	0,39 »
Winterlinsen	0,26 »
Engl. Weizen	0,10 »
Helena-Weizen	0,11 »
Roggen	0,16 »
Gerste	0,18 »
Hafer	0,69 »
Rosskastanien	0,12 »

---

1) Die letzteren Zahlen sind berechnet unter der Annahme, dass dem Lecithin die Formel $C^{44}H^{90}$, NPO^{9} zukommt; wir entnehmen dieselben der Abhandlung Jacobson's, mit Ausnahme der letzten Zahl, welche Jacobson nicht mit aufführt.

2) E. v. Wolff, Leitfaden der landwirthschaftlichen Fütterungslehre, 4. Auflage, S. 223.

3) Auf die Samentrockensubstanz berechnet, würden die Zahlen um $^1/_7$—$^1/_8$ höher werden.

4) Berechnet unter Zugrundelegung des von Wolff für gelbe Lupinen angegebenen Fettgehalts.

Sehr viel höhere Zahlen fand Jacobson (l. c.) für den Phosphorgehalt des Fettes aus Wicken-, Bohnen-, Erbsen- und Lupinen-Samen. Doch muss gleich bemerkt werden, dass die von ihm untersuchten Fette nicht in der gewöhnlichen Weise, d. h. durch Extraction der gepulverten Samen mittelst Aether, sondern nach folgendem Verfahren dargestellt worden waren: Die gepulverten Samen wurden mit Alkohol extrahirt, die alkoholischen Extracte eingedunstet und die dabei verbleibenden Rückstände mit Aether behandelt; nur das in Aether Gelöste wurde in Arbeit genommen. Für den Phosphorgehalt dieser Objecte und für den daraus sich berechnenden Gehalt derselben an Lecithin macht Jacobson folgende Angaben:

	P in % des Fettes:	Lecithin in % des Fettes:
Bohnen	2,47	64,04
Wicken	0,80	20,83
Erbsen	1,93	50,25
Lupinen	1,92	50,00

Durch die grosse Differenz zwischen diesen Resultaten und denjenigen Töpler's wurde Jacobson veranlasst, noch eine Phosphorbestimmung in dem aus gepulverten Bohnensamen durch Aether direct extrahirten Fett auszuführen. Er fand nun 0,744 % P — eine Zahl, welche von der durch Töpler gefundenen nur sehr wenig abweicht. Jacobson hält diese Zahl für die maassgebende. Zur Erklärung der hohen Resultate, welche er für den Phosphorgehalt der nach dem anderen Verfahren aus Bohnen, Wicken, Erbsen und Lupinen dargestellten Fette fand, spricht er die Vermuthung aus, «dass bei der Gewinnung des Rohfettes durch die erste Extraction desselben mittelst Alkohol phosphorhaltige Substanzen, die unter gewöhnlichen Umständen nicht von Aether gelöst werden, in andere phosphorhaltige Körper zerlegt werden, die in Aether löslich sind, welche Möglichkeit z. B. in Bezug auf die phosphorhaltigen Nucleine nicht als ganz ausgeschlossen erscheint»[1].

---

[1]) Inaugural-Dissertation, S. 19. M. vgl. auch Jacobson's Abhandlung in dieser Zeitschrift; auf S. 38 heisst es daselbst: «Man ist zu der

Die richtige Erklärung für die grossen Differenzen, welche in diesen Untersuchungen die nach verschiedenen Methoden aus den Pflanzensamen dargestellten Fette in Bezug auf den Phosphorgehalt zeigten, ergiebt sich aus einer von uns ausgeführten Arbeit, deren Resultate wir im Folgenden mittheilen. Diese Arbeit hat aber auch bewiesen, dass auch die aus dem Phosphorgehalt der Aetherextracte für den Lecithingehalt der Pflanzensamen berechneten Zahlen keineswegs als richtig zu betrachten sind.

Den Ausgangspunkt für unsere Untersuchung bildeten einige Beobachtungen, welche von uns gemacht wurden, als wir den Lecithingehalt der Samen von Lupinus luteus zu bestimmen suchten. Dabei kam folgendes Verfahren zur Anwendung: Die entschälten und auf das Feinste gepulverten Samen[1]) wurden mit Aether (und zwar mit käuflichem Aether absolutus) vollständig extrahirt, der Extract in einer Platinschale eingedunstet, der dabei verbleibende Rückstand mit Soda und Salpeter gemengt und vorsichtig bis zum Verschwinden der Kohle geglüht. Den Glührückstand lösten wir in Wasser, übersättigten die Lösung mit Salpetersäure und bestimmten die darin vorhandene Phosphorsäure nach der Molybdänsäure-Methode.

Durch Multiplication der dabei erhaltenen Magnesiumpyrophosphat-Menge mit dem Faktor 7,2703 berechneten wir dann die im Untersuchungsobject vorhanden gewesene Lecithin-Quantität.

Nach diesem Verfahren erhielten wir ganz verschiedene Zahlen für den Lecithingehalt von zwei Lupinensamen-Sorten,

Annahme gezwungen, dass bei der Gewinnung des Rohfettes durch die erste Extraction desselben aus dem Samen mittelst Alkohol Phosphor anderen Ursprungs als aus Lecithin in eine in Aether lösliche Form übergeführt wird, und beim Aufnehmen des Alkohol-Extracts mit Aether in diesen mit übergeht. Welcher Art diese andere Phosphorquelle ist, ist freilich unbekannt.»

[1]) Zum Pulvern der Samen benutzten wir die Mühle (oder richtiger «Reibe»), welche nach Angaben Märcker's vom Mechaniker Dreefs in Halle a./S. construirt worden ist.

beide Lupinus luteus, aber aus zwei verschiedenen Jahren stammend. Die folgenden Angaben zeigen dies:

	Lecithingehalt der schalenfreien Samentrockensubstanz:
Sorte I	1,27 %
Sorte II	0,21 »

Da es höchst unwahrscheinlich ist, dass der gleiche Samen in verschiedenen Jahren einen so ungleichen Lecithingehalt besitzt, so mussten wir auf den Gedanken kommen, dass die zur Lecithinbestimmung von uns angewendete Methode Fehler involvirte. In der Art und Weise, in welcher wir den Phosphorgehalt der Aetherextracte bestimmten, konnten diese Fehler kaum liegen; es erschien aber möglich, dass der phosphorhaltige Samenbestandtheil (das Lecithin) durch den Aether nicht immer vollständig extrahirt wurde. Während wir damit beschäftigt waren, diese Frage experimentell zu prüfen, fanden wir in einer schon im Jahre 1871 publicirten Abhandlung A. Beyer's[1]) die Angabe, dass aus Lupinensamen, welche man zuvor mittelst Aethers entfettet hat, durch Alkohol eine fettartige Substanz extrahirt wird, welche weit reicher an Phosphor ist, als das durch Aether gelöste Fett[2]). Diese Substanz bleibt zurück, wenn man die beim Eindunsten des alkoholischen Extracts hinterbleibende Masse mit Wasser behandelt. Merkwürdigerweise löst sie sich nun in Aether auf; beim Verdunsten der Lösung bleibt sie als «ein festes, schmieriges Fett von gelbbrauner Farbe» zurück.

Diese Angaben Beyer's fanden wir vollkommen richtig. Als wir feingepulverte Lupinensamen, welche mittelst Aethers entfettet worden waren, mit absolutem Alkohol bei Wasserbadhitze behandelten, resultirte eine gelbe Lösung, welche beim Eindunsten einen gelbbraunen Rückstand lieferte. Bei Behandlung mit kaltem absolutem Aether ging ein sehr beträchtlicher Theil desselben in Lösung; der Rest löste sich in Wasser zu einer allerdings nicht ganz klaren Flüssigkeit.

---

[1]) Landw. Versuchsstationen, Bd. 14, S. 165.

[2]) In letzterem fand Beyer nur 0,098 % P, in dem durch Alkohol extrahirten Fett dagegen 1,56 % P.

Als der beim Verdunsten der ätherischen Lösung hinterbleibende Rückstand mit Soda und Salpeter geglüht wurde, entstand eine phosphoräurehaltige Masse.

Wir mussten nun zunächst die von Beyer ganz offen gelassene Frage zu entscheiden suchen, ob der in Aether lösliche Theil des Alkoholextracts Lecithin enthält. War dies der Fall, so musste derselbe nicht nur Phosphor enthalten (was ja bereits nachgewiesen ist), sondern es mussten sich daraus auch sowohl Fettsäuren wie Cholin darstellen lassen. Das war in der That der Fall. Wir wollen im Folgenden zunächst die Versuche beschreiben, welche zur Gewinnung von Cholin führten.

Gepulverte Lupinensamen, welche durch Behandlung mit kaltem Aether entfettet worden waren[1]), wurden bei einer Temperatur von 70—80° mit 95procentigem Alkohol extrahirt[2]). Den filtrirten Extract unterwarfen wir der Destillation; die nach Verflüchtigung des Alkohols zurückbleibende Masse wurde mit kaltem reinem Aether behandelt[3]). Die filtrirte ätherische Lösung wurde eingedunstet, der Rückstand eine Stunde lang mit Barytwasser gekocht; dann leiteten wir Kohlensäure ein, bis die Flüssigkeit nicht mehr alkalisch

---

[1]) Die Entfettung wurde in folgender Weise bewerkstelligt: Wir brachten die gepulverten Samen in ein Glassgefäss, übergossen sie mit Aether und sorgten durch häufiges Umschütteln für gute Mischung. Nach mindestens 12stündigem Stehen wurde die ätherische Fettlösung abgegossen und durch frischen Aether ersetzt; diese Operation wurde noch ein oder zwei Mal wiederholt. Schliesslich brachten wir das Samenpulver auf ein Filter und wuschen mit Aether aus, bis die Flüssigkeit, welche anfangs gelb gefärbt war, vollkommen farblos ablief.

[2]) Da ein alkoholischer Extract aus Lupinensamen ziemlich stark sauer reagirt, so wurde bei der Extraction meist etwas kohlensaures Calcium zugesetzt. Uebrigens wirken nach den Untersuchungen von E. Gilson (diese Zeitschrift, Bd. 12, S. 585) Säuren weit langsamer auf das Lecithin ein, als früher angenommen wurde.

[3]) Wir fanden es zweckmässig, dabei etwas Wasser zuzusetzen. Das letztere nimmt die in Aether unlöslichen Bestandtheile des Alkoholextracts auf. Die ätherische Lösung wurde dann durch Abheben von der wässrigen getrennt.

reagirte, filtrirten und dunsteten das Filtrat unter Zusatz von einigen Tropfen verdünnter Salzsäure im Wasserbade bis zur Syrupsconsistenz ein. Den Syrup extrahirten wir in der Wärme mit absolutem Alkohol, dunsteten den Extract ein und nahmen den Rückstand noch einmal in absolutem Alkohol auf. Die so erhaltene Lösung wurde mit einer alkoholischen Platinchloridsolution versetzt. Es entstand ein hellgelber Niederschlag, welcher abfiltrirt, mit Alkohol gewaschen, zwischen Filtrirpapier abgepresst und sodann mit Wasser behandelt wurde. Der grösste Theil löste sich auf; zurück blieb ein sehr schwer lösliches Platindoppelsalz[1]) in nicht beträchtlicher Menge. Die Lösung lieferte beim Verdunsten zunächst noch etwas von dem schwer löslichen Doppelsalz; dann krystallisirte ein leichter lösliches orangerothes Salz aus. Die Krystalle wurden durch Abpressen zwischen Filtrirpapier von der dickflüssigen Mutterlauge, durch wiederholtes Lösen in kaltem Wasser von noch beigemengtem schwer löslichen Salz getrennt, dann für sich umkrystallisirt. Sie zeigten nun die Formen des Cholinplatinchlorids. Das Chlorhydrat der Base, erhalten durch Zerlegung des Platindoppelsalzes mittelst Schwefelwasserstoff, gab die folgenden, mit denen des Cholins übereinstimmenden, Reactionen:

Mit Phosphorwolframsäure	weisser Niederschlag,
» Phosphormolybdänsäure	gelblicher Niederschlag,
» Kaliumwismuthjodid	rother Niederschlag.
» Kaliumquecksilberjodid	gelber Niederschlag,
» Jod-Jodkalium	brauner Niederschlag,
» Goldchlorid	gelber Niederschlag, löslich in heissem Wasser,
» Quecksilberchlorid	langsam entstehende weisse krystallinische Ausscheidung,
» Gerbsäure	0.

[1]) Dasselbe lieferte bei der Zerlegung (mittelst Schwefelwasserstoff) ein bitter schmeckendes Chlorhydrat. Wahrscheinlich gehörte dasselbe einem der Lupinen-Alkaloide an. Beyer (l. c.) erwähnt, dass dem aus dem Alkoholextract von ihm dargestellten «phosphorreichen Fett» ein Rest der Alkaloide (des Bitterstoffs) hartnäckig anhaftete. Er entfernte sie, indem er die ätherische Lösung des Fettes wiederholt mit HCl-haltigem Wasser durchschüttelte.

Eine mit einem Alkali oder mit einer alkalischen Erde versetzte wässrige Lösung des Chlorhydrats entwickelte langsam den Geruch des Trimethylamins.

Schliesslich wurde noch das Golddoppelsalz der Base untersucht. Dasselbe stimmte im Aussehen wie im Verhalten mit Cholingoldchlorid überein. Die Goldbestimmung gab folgende Resultate:

1. 0,3490 gr. Substanz[1]) gaben 0,1553 gr. Au.
2. 0,2400 » » » 0,1070 » »

	Berechnet für Cholingoldchlorid = $C_5H_{14}NOAuCl_4$:	Gefunden: 1.	2.
Au	44,43	44,50	44,58 %.

Die im Vorigen gemachten Angaben beweisen, dass der in Aether lösliche Theil des Alkoholextracts aus entfetteten Lupinensamen bei der Verseifung Cholin lieferte. Die Quantität des letzteren war freilich keine grosse; wir mussten daher einige Kilogramm Lupinensamen verarbeiten, um eine zur Ausführung der beschriebenen Versuche genügende Cholin-Menge zu erhalten. Dies kann auch kaum Wunder nehmen. Denn erstens war ja in dem Untersuchungsmaterial nur noch der bei der ersten Extraction mit Aether nicht in Lösung gegangene Theil des Lecithins vorhanden[2]); zweitens tritt während der Verseifung wohl stets Verlust an Cholin ein, da ja bekanntlich die freie Base in wässriger Lösung nicht sehr beständig ist; endlich war auch die Trennung des Cholinplatinchlorids von den daneben vorhandenen Substanzen selbstverständlich nicht ohne Verlust zu bewerkstelligen.

Dass bei der Verseifung der fraglichen fettartigen Substanz neben Cholin auch Fettsäuren resultiren, wird durch folgende Versuche bewiesen: Eine Quantität von ungefähr 400 gr. entfetteter Lupinensamen wurde in der Wärme mit

[1]) Die Substanz war zuerst über Schwefelsäure, dann bei 95° getrocknet worden.

[2]) Allerdings wurde aus der zweiten von uns untersuchten Lupinensamen-Sorte (m. vgl. w. o.) bei der ersten Extraction mit Aether nur sehr wenig Lecithin gelöst; von dieser Sorte hatten wir aber nur geringen Vorrath, so dass wir für obige Versuche hauptsächlich eine andere Sorte verwenden mussten.

95procentigem Alkohol extrahirt, der Extract eingedunstet, die dabei verbleibende Masse mit Äther behandelt. Die filtrirte ätherische Lösung dunsteten wir ein und kochten den Rückstand einige Stunden lang am Rückflusskühler mit alkoholischer Kalilauge. Die so erhaltene Lösung wurde eingedunstet, der Rückstand in Wasser aufgenommen und in einem Stöpselcylinder mehrmals mit Aether durchgeschüttelt. Der ätherische Auszug wurde abgehebert, die rückständige Seifenlösung im Wasserbade auf ein geringeres Volumen eingedunstet und sodann mit Schwefelsäure versetzt. Es entstand eine Ausscheidung von Fettsäuren. Wir lösten dieselben in Aether. Die zur Reinigung mit Wasser durchgeschüttelte und dann filtrirte ätherische Lösung lieferte beim Verdunsten einen in der Wärme flüssigen, beim Erkalten fest werdenden Rückstand, welcher sich in Alkohol auflöste; die sauer reagirende Lösung lieferte beim Verdunsten Krystalle. Dass hier Fettsäuren vorlagen, geht noch daraus hervor, dass die Verbindungen derselben mit Kali in Wasser löslich waren, dass die Lösung beim Durchschütteln stark schäumte und auf Zusatz eines Calcium- oder Magnesiumsalzes einen Niederschlag gab.

Erwähnt sei noch, dass der in Aether lösliche Theil des Alkohol-Extractes beim Uebergiessen mit Wasser eine schleimige Beschaffenheit annahm, während eine vermuthlich nur geringe Substanzmenge in Lösung ging[1]). Das in Wasser Unlösliche zeigte unter dem Mikroskop ölige Tropfen. Der Phosphorgehalt dieser Substanz betrug 3,13%.

Aus den im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnissen ist zu schliessen, dass der in Aether lösliche Theil des Alkohol-Extractes aus entfetteten Lupinensamen Lecithin enthielt. Der Nachweis dieses Körpers fusst bekanntlich im Wesentlichen auf demjenigen seiner Zersetzungsproducte[2]); den letz-

[1]) Der wässrige Extract (welcher sehr schlecht filtrirte) reagirte sauer. Die Lupinensamen enthalten organische Säuren (Citronensäure etc.), welche in den Alkohol-Extract übergehen. Bei Behandlung des letzteren mit Aether wird, wie es scheint, etwas von diesen Säuren aufgelöst.

[2]) Hoppe-Seyler, Handbuch der physiol.- u. pathol.-chem. Analyse, 5. Auflage, S. 168.

teren Nachweis aber haben wir geführt. Wir haben gezeigt, dass die von uns untersuchte Substanz beim Glühen unter Soda- und Salpeter-Zusatz einen phosphorsäurehaltigen Rückstand, bei der Verseifung Cholin und Fettsäuren lieferte[1]; auch wurde constatirt, dass unter den bei Einwirkung des Barytwassers auf dieselbe entstandenen Producten sich eine phosphorhaltige Baryumverbindung vorfand, welche gleich dem glycerinphosphorsauren Baryum sich in Wasser, nicht in Alkohol löste. Alle diese Thatsachen sprechen dafür, dass Lecithin vorhanden war.

Wie es zugeht, dass bei der Behandlung der feingepulverten Samen mit kaltem Aether das Lecithin nur theilweise in Lösung geht, vermögen wir nicht mit Sicherheit anzugeben. Vielleicht schützen gewisse Samenbestandtheile den genannten Stoff mehr oder weniger vor der Einwirkung des Aethers; oder es findet sich derselbe vielleicht z. Th. in einer lockeren Verbindung mit einem anderen Körper vor, welcher bei Behandlung der Samen mit kochendem Alkohol sich zersetzt.

Die im Vorigen von uns mitgetheilten Versuchsergebnisse machen es fast zweifellos, dass wir für den Phosphorgehalt der aus verschiedenen Lupinensamen-Sorten erhaltenen Aether-

---

[1]) Man könnte fragen, ob nicht vielleicht bei der Behandlung der gepulverten Samen mit Aether ausser einem Theile des Lecithins auch ein Theil der in den Samen vorhandenen Triglyceride ungelöst blieb und ob nicht die letzteren, nach dem Uebergang in den Alkoholextract, die Fettsäuren geliefert haben können, welche wir bei Verseifung des in Aether löslichen Theils des Alkoholextracts erhielten. Diese Frage muss aber wohl verneint werden. Es ist bis jetzt noch niemals nachgewiesen worden, dass bei Behandlung feingepulverter Samen mit Aether die vorhandenen Glyceride nur unvollständig in Lösung gehen; sodann aber ist ein Vorhandensein von Triglyceriden im Alkoholextract schon deshalb nicht anzunehmen, weil Proben desselben (nach dem Eindampfen) sich in warmem Alkohol leicht und ohne Rückstand auflösten.

Beiläufig sei hier noch erwähnt, dass in dem in Aether löslichen Theile des Alkoholextracts Cholesterin nicht nachzuweisen war. Dasselbe war also bei der Behandlung der gepulverten Samen mit Aether vollständig extrahirt worden.

extracte nur deshalb so stark differirende Zahlen fanden, weil das Lecithin nur unvollständig, und zwar bald in geringerem, bald in stärkerem Grade, in die ätherische Lösung eingegangen war; sie führen ferner zu der Schlussfolgerung, dass man zu ganz unrichtigen Resultaten gelangt, wenn man den Lecithingehalt der Lupinensamen aus dem Phosphorgehalt der Extracte berechnet, welche bei Behandlung der gepulverten Samen mit Aether erhalten werden. Dass aber das Gleiche auch für andere Pflanzensamen gilt, geht aus Beobachtungen hervor, welche sowohl von uns selbst wie von Anderen gemacht worden sind. So fand z. B. König[1]) im Aetherextract aus Wickensamen nur 0,03 % Phosphor, während sich darin nach Töpler (l. c.) 0,50 % Phosphor vorfindet — eine Differenz, welche doch wohl durch die Annahme erklärt werden muss, dass der Aether auch aus gepulverten Wickensamen bald mehr, bald weniger Lecithin auflöst. Die Phosphormengen, welche wir im Aether-Alkohol-Extract aus einer Bohnen- und einer Wicken-Samensorte vorfanden, waren beträchtlich grösser als diejenigen, welche W. Maxwell in einer in unserem Laboratorium ausgeführten Untersuchung in den aus dem gleichen Material dargestellten Aetherextracten fand.

Da demnach die für den Lecithingehalt der Pflanzensamen bisher angegebenen Zahlen als unrichtig angesehen werden müssen, so haben wir uns bemüht, für einige solche Samen richtigere Werthe zu gewinnen. Die betreffenden Bestimmungen führten wir anfangs in folgender Weise aus: Eine abgewogene Quantität des auf's Feinste gepulverten Samens wurde in eine Papierhülse gebracht und im Soxhlet'schen Extractionsapparat mit Aether vollständig extrahirt. Die entfettete Substanz brachten wir mit sammt der Papierhülse in einen Kolben und extrahirten sie zwei Mal bei Wasserbadhitze mit absolutem Alkohol (wobei jedesmal ca. eine Viertelstunde lang am Rückflusskühler gekocht wurde). Schliesslich wurde die Substanz auf ein Filter gebracht und noch mit warmem absolutem Alkohol ausgewaschen. Die vereinigten

---

[1]) Landwirthsch. Versuchsstationen, Bd. 17, S. 14, Anmerkung 1.

alkoholischen Extracte wurden in einer Platin- oder Porcellanschale im Wasserbade bei sehr gelinder Wärme eingedunstet. Den Verdampfungsrückstand behandelten wir mit Aether. Die ätherische Lösung wurde mit dem bei der ersten Extraction gewonnenen ätherischen Auszug vereinigt und sodann in einer Platinschale zur Trockne verdunstet. In der rückständigen Masse bestimmten wir den Phosphorgehalt nach den Vorschriften, welche Hoppe-Seyler in seinem Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse, 5. Auflage, S. 82, giebt. Durch Multiplication der dabei erhaltenen Magnesiumpyrophosphat-Menge mit dem Faktor 7,2703 berechneten wir sodann den Lecithingehalt der untersuchten Substanz.

Ehe wir eine Vereinfachung erwähnen, welche wir später an diesem Verfahren anbrachten, wollen wir zunächst die Frage stellen, ob die nach demselben erhaltenen Resultate durch das Vorhandensein anorganischer Phosphorverbindungen beeinflusst werden konnten. Diese Frage ist zu verneinen. Dass phosphorsaure Salze weder durch Aether noch durch Alkohol gelöst werden, wird bestimmt angegeben, so z. B. von Hoppe-Seyler[1]). Einige von uns ausgeführte Versuche bestätigten dies. Als wir ätherische Extracte aus Lupinen-, Wicken- und Weizen-Samen wiederholt mit Wasser durchschüttelten, die mittelst eines Hebers oder einer Pipette von den ätherischen Lösungen getrennten wässrigen Flüssigkeiten sodann auf ein geringes Volumen verdunsteten und mittelst Molybdänsäure-Solution auf Phosphorsäure prüften, erhielten wir ganz negative Resultate. Aber auch bei der darauf folgenden Extraction mit absolutem Alkohol gingen Phosphate entweder gar nicht, oder doch wenigstens nur in nicht mehr deutlich nachweisbaren Mengen in Lösung. Den Alkoholextract aus Lupinensamen prüften wir auf Phosphorsäure zunächst in der Weise, dass wir eine Portion desselben eindunsteten, die rückständige Masse mit Wasser extrahirten

[1]) Handbuch der physiol.- u. pathol.-chem. Analayse, 5. Auflage. S. 168 u. 169.

und den Extract (welcher schlecht filtrirte) mit Molybdänsäure-Solution versetzten. Es entstand ein flockiger Niederschlag, welcher durch Filtration beseitigt wurde; das gelbgefärbte Filtrat gab nach dem Erwärmen weder sofort noch bei längerem Stehen die geringste Menge der gelben Ausscheidung, deren Entstehen die Gegenwart von Phosphorsäure anzeigt. Später fanden wir es zweckmässiger, für die Prüfung auf Phosphorsäure die in Wasser löslichen Rückstände zu benutzen, welche bei Behandlung der eingedunsteten Alkoholextracte mit Aether übrig blieben. Die wässrigen Lösungen dieser Rückstände, in denen die durch den Alkohol etwa extrahirten Phosphate sich vorfinden mussten, gaben beim Erwärmen mit Molybdänsäure-Solution in einigen Fällen schwache Gelbfärbung; niemals aber war eine Ausscheidung zu beobachten, welche als sicherer Beweis für das Vorhandensein von Phosphorsäure hätte angesehen werden können[1]). Bemerkt sei noch, dass für die betreffenden Versuche Alkoholextracte aus Lupinen-, Wicken-, Bohnen-, Weizen-, Roggen- und Lein-Samen zur Verwendung kamen.

Wir haben sodann noch geprüft, ob die Rückstände, welche bei Behandlung der eingedunsteten Alkoholextracte mit Aether übrig blieben, Phosphor in organischer Verbindung enthielten. Zu diesem Zweck verbrannten wir dieselben unter Zusatz von Soda und Salpeter und prüften sodann mittelst Molybdänsäure-Solution auf Phosphorsäure. In allen Fällen wurde letztere vorgefunden; die Quantität derselben war aber äusserst gering — so gering, dass die in dieser Form sich vorfindende Phosphormenge höchstens etwa einige Tausendstel Procent vom Gewicht des angewendeten Samenpulvers betrug. Ueber die Natur der hier vorhandenen Phosphorverbindung lässt sich etwas Sicheres nicht angeben; es

[1]) Beyer (l. c.) giebt an, dass der Alkohol-Extract aus Lupinensamen, aus welchem er sein «phosphorreiches Fett» gewann, Phosphorsäure enthielt. Diese Angabe steht nicht im Gegensatz zu dem von uns erhaltenen Versuchsergebniss. Denn Beyer verwendete als Extractionsmittel 80procentigen Alkohol. Dass durch letzteren phosphorsaure Salze gelöst worden sind, kann nicht auffallen.

darf aber vielleicht als möglich bezeichnet werden, dass entweder eine sehr geringe Lecithinmenge der Auflösung durch den Aether entgangen war[1]), oder dass ein wenig Glycerinphosphorsäure sich vorfand, entstanden durch Zersetzung von etwas Lecithin während des Eindampfens der alkoholischen Extracte. Welcher Art nun auch die in jenen Rückständen sich vorfindende Phosphorverbindung sein mochte — jedenfalls war die Quantität derselben so gering, dass es gleichgültig war, ob wir dieselbe bei Ausführung der Lecithinbestimmungen berücksichtigten oder nicht; denn die dadurch bedingten Aenderungen der Resultate lagen vollständig innerhalb der Fehlergrenze jener Bestimmungen.

Auf Grund der im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnisse erschien es statthaft, das für die Bestimmung des Lecithins verwendete Verfahren noch zu vereinfachen. Da die Rückstände, welche bei Behandlung der eingedunsteten Alkoholextracte übrig blieben, frei von Phosphaten waren und organische Phosphorverbindungen nur in einer nicht in Betracht kommenden Quantität enthielt, so musste es als unnöthig bezeichnet werden, die Alkoholextracte in einen in Aether löslichen und einen darin unlöslichen Theil zu zerlegen und nur den ersteren in Arbeit zu nehmen; es war statthaft, den ganzen Alkoholextract für die Bestimmung zu verwenden. Wir haben daher einen Theil unserer Bestimmungen nach dem folgenden vereinfachten Verfahren ausgeführt: Das Samenpulver wurde in der früher beschriebenen Weise zuerst mit Aether, dann mit absolutem Alkohol extrahirt. Den ätherischen sowohl wie den alkoholischen Extract dunsteten wir in der gleichen Platinschale ein. In dem dabei erhaltenen Rückstande bestimmten wir sodann den Phosphorgehalt nach dem früher angegebenen Verfahren.

---

[1]) Es ist wohl als nicht unmöglich zu bezeichnen, dass die in Aether unlöslichen Bestandtheile des Alkoholextractes die Einwirkung des Aethers auf das in jenem Extract vorhandene Lecithin erschwerten, und dass in Folge davon eine absolut vollständige Extraction des letzteren nicht stattfand. Wurde der in Aether unlösliche Theil des Alkoholextractes in Wasser aufgenommen, so enstand, wie w. o. schon erwähnt worden ist, eine nicht ganz klare Flüssigkeit.

Dass die in dieser Weise erhaltenen Zahlen nur sehr wenig von denen differirten, welche nach dem vorher beschriebenen umständlicheren Verfahren gewonnen wurden, ergiebt sich aus der nachfolgenden Zusammenstellung, in welcher die ersteren mit * bezeichnet sind:

	Gehalt an Lecithin: %	
Lupinensamen	2,20 2,02 2,03 2,14 *	angegeben in % der schalenfreien Samentrockensubstanz.
Wickensamen	1,21 1,23 *	angegeben in % der schalenhaltigen Samentrockensubstanz.
Bohnensamen	0,80 0,82 *	
Roggenkörner	0,56 0,58 *	

Die für den Lecithingehalt der verschiedenen Samen gefundenen Mittelzahlen stellen wir in der nachfolgenden Tabelle zusammen. Die erste Columne dieser Tabelle enthält die nähere Bezeichnung der zur Verwendung gekommenen Samen; in der zweiten Columne geben wir die für den Phosphorgehalt der ätherisch-alkoholischen Extracte, in der dritten Columne die für den Lecithingehalt gefundenen Zahlen[1]). Diese Zahlen beziehen sich sämmtlich auf die Trockensubstanz der Samen. Die Lupinensamen wurden entschält, ehe sie zur Verwendung kamen; die übrigen Samen dagegen wurden mit den Schalen verwendet. Um die für die Lupinen erhaltenen Zahlen mit den übrigen direct vergleichbar zu machen, haben wir dieselben auf schalenhaltige Samen umgerechnet (m. vgl. die analytischen Belege). Die Samenschalen der Lupinen enthielten kein Lecithin (ein ätherisch-alkoholischer Extract aus denselben war frei von Phosphor).

Es liegt auf der Hand, dass die für den Phosphorgehalt der ätherisch-alkoholischen Extracte gefundenen Zahlen ein-

[1]) Es sei bemerkt, dass die Zahlen der zweiten Columne (% P im ätherisch-alkoholischen Extract) aus denjenigen der dritten Columne berechnet sind, und zwar durch Multiplication der letzteren mit dem Faktor 0,03841.

wurfsfreier sind, als diejenigen, welche für den Lecithingehalt ermittelt wurden. Denn die letzteren gelten ja nur unter der Voraussetzung, dass die von uns untersuchten Samen ausser Lecithin keine in Aether und in Alkohol lösliche Phosphorverbindung enthielten. Ob diese Voraussetzung eine zutreffende ist, lässt sich nicht mit Sicherheit angeben. Doch hat man, so viel wir wissen, bis jetzt ausser Lecithin keine Phosphorverbindung solcher Art in den Pflanzen nachgewiesen. Glycerinphosphorsaure Salze lösen sich nach Hoppe-Seyler[1]) weder in Aether noch in Alkohol.

	Gehalt der Samentrockensubstanz an	
	P im ätherisch-alkoholischen Extract %	Lecithin %
Gelbe Lupine (Lupinus luteus) I	0,060	1,55
» » » » II	0,061	1,59
Sojabohne (Soja hispida)	0,063	1,64
Wicke (Vicia sativa).	0,047	1,22
Bohne (Faba vulgaris)	0,031	0,81
Weizen (Triticum vulgare)	0,025	0,65
Roggen (Secale cereale)	0,022	0,57
Gerste (Hordeum distichon)	0,028	0,74
Lein (Linum usitatissimum)	0,034	0,88

Nach den Zahlen dieser Tabelle besitzen die stickstoffreichen Lupinen- und Sojasamen einen relativ hohen Lecithingehalt; weit niedriger ist der letztere in den Getreidekörnern. Wicken-, Bohnen- und Leinsamen stehen in Bezug auf den Lecithingehalt in der Mitte.

Die von uns gefundenen Zahlen liegen in allen Fällen höher als diejenigen, welche sich aus den w. o. erwähnten Bestimmungen Töpler's für den Lecithingehalt der gleichen Samen-Arten berechnen — was man als einen weiteren Beweis dafür betrachten kann, dass nicht nur aus den Lupinen-, sondern auch aus anderen Pflanzensamen das Lecithin durch Aether nur unvollständig extrahirt wird. Bei zwei von den

[1]) Handbuch der physiol.- u. pathol.-chem. Analyse, 5. Aufl., S. 168.

für unsere Untersuchung verwendeten Objecten, nämlich bei Wicken und Bohnen, hat W. Maxwell in unserem Laboratorium den Phosphorgehalt des Aetherextracts bestimmt; für den Lecithingehalt derselben berechnen sich daraus folgende Zahlen:

Wicken . . . 0,550 %,
Bohnen . . . 0,600 »

während wir in den gleichen Objecten nach dem von uns beschriebenen Verfahren 1,22 %, bezw. 0,81 % Lecithin fanden.

Beiläufig sei hier noch erwähnt, dass man nach dem gleichen Verfahren in etiolirten Lupinenkeimlingen einen weit niedrigeren Lecithingehalt findet, als in ungekeimten Lupinensamen — woraus zu schliessen ist, dass ein beträchllicher Theil des Lecithins sich während des Keimungsvorganges zersetzt. Näheres darüber soll an anderem Orte mitgetheilt werden.

Wie erklärt es sich nun, dass die von Jacobson untersuchten Rohfette aus Wicken-, Bohnen-, Erbsen- und Lupinensamen einen so hohen Phosphorgehalt besassen? Die Erklärung dafür darf wohl in folgenden Umständen gesucht werden: Die in Aether löslichen Bestandtheile der genannten Samen sind z. Th. schwer löslich, z. Th. leicht löslich in heissem Alkohol. Zu den schwer löslichen Bestandtheilen gehören manche Triglyceride, so z. B. das Triolein[1]), zu den leichter löslichen das Lecithin, das Cholesterin, die freien Fettsäuren u. s. w. Behandelt man die gepulverten Samen in der Wärme mit Alkohol, so werden meistens wohl die Glyceride nur unvollständig extrahirt werden[2]), während die anderen vorher

[1]) Man kann sich leicht durch den Versuch davon überzeugen, dass viele aus den Pflanzensamen gewonnene Fette sich in kochendem Alkohol sehr schwer auflösen. Dies gilt z B. auch für das Fett aus Lupinensamen.

[2]) Jedenfalls ist oft wiederholte Behandlung der Samen mit heissem Alkohol erforderlich, um die Glyceride vollständig zu extrahiren. Wir constatirten z. B., dass gepulverte Wickensamen, welche zwei Mal mit Weingeist ausgekocht worden waren, an Aether noch Fett abgaben. Ob bei Darstellung der von Jacobson untersuchten Fette die betreffenden Samen wiederholt mit Alkohol ausgekocht worden sind, wissen wir nicht.

genannten Substanzen weit vollständiger in den Extract übergehen. Dunstet man den Extract ein und behandelt den Verdampfungsrückstand mit Aether, so geht ein Rohfett in Lösung, welches von dem aus den Samen durch Aether direct extrahirten Fett in der Zusammensetzung auch abgesehen vom Lecithingehalt beträchtlich abweichen kann. In Bezug auf den Lecithingehalt muss aber die Differenz insbesondere deshalb eine sehr grosse sein, weil bei directer Behandlung der gepulverten Samen mit Aether das Lecithin nur unvollständig in Lösung geht, während es aus dem eingedunsteten Alkohol-Extract durch Aether vollständig oder doch wenigstens bis auf einen ganz geringen Rest ausgezogen wird.

Rohfett aus Leguminosensamen, welches in der von Jacobson beschriebenen Art und Weise dargestellt ist, muss also einen viel höheren Phosphorgehalt besitzen, als das aus den gleichen Samen durch Aether direct extrahirte Fett. Es dürfte demnach kaum nöthig sein, zur Erklärung dieses hohen Phosphorgehalts die w. o. reproducirte Annahme zu Hülfe zu ziehen, welche Jacobson auf S. 38 seiner Abhandlung ausgesprochen hat.

Nachschrift. Zur Ergänzung der auf S. 371—374 über das Verhalten der lecithinhaltigen Extracte aus Lupinensamen gemachten Angaben haben wir nachträglich noch folgende Versuche ausgeführt: Entfettete Lupinensamen wurden bei 70—80° mit Alkohol extrahirt, der möglichst genau neutralisirte Extract bei sehr gelinder Wärme eingedunstet, der dabei erhaltene Rückstand mit Wasser übergossen[1]), der wässrige Extract abgegossen, das Unlösliche in Aether unter Zusatz von etwas Wasser aufgenommen. Die ätherische Lösung trennten wir durch Abhebern von der wässrigen und schüttelten sie zur Reinigung nach dem Vorgange Beyer's (m. vgl. S. 371, Anmerk. 1) mit HCl-haltigem Wasser durch[2]); dann

---

[1]) Wir vermieden es, die mit Wasser übergossene Masse umzurühren; denn wenn man dies thut, so entsteht eine sehr schlecht filtrirende Emulsion.

[2]) Die beim Durchschütteln sich bildende Emulsion trennt sich sehr langsam.

wurde sie eingedunstet. In dem bei bei 95° getrockneten Verdampfungsrückstand wurden 3,82% P gefunden (0,285 gr. Substanz lieferten 0,0390 gr. $Mg^2P^2O^7$). Eine andere Portion der ätherischen Lösung, welche öfter mit HCl-haltigem Wasser durchgeschüttelt worden war (wobei möglicherweise ein geringer Theil des Lecithins sich zersetzt hatte), lieferte beim Eindunsten einen Rückstand, welcher 3,49% P enthielt (0,400 gr. Substanz gaben 0,0500 gr. $Mg^2P^2O^7$). Im Mittel wurden also 3,66% P gefunden, während Lecithin (= $C^{44}H^{90}NPO^9$) 3,84% P enthält. Die gereinigte ätherische Lösung scheint demnach neben Lecithin nur geringe Mengen anderer Substanzen enthalten zu haben.

Analytische Belege.

Vorbemerkungen. Das für die Extraction bestimmte Samenpulver wurde in wasserhaltigem Zustand abgewogen; der Kürze halber geben wir aber im Folgenden nur das Gewicht der in den abgewogenen Substanzmengen enthaltenen Trockensubstanz an. Der Wassergehalt der untersuchten Substanzen war meistens geringer, als derjenige, welchen die gleichen Samen in lufttrocknem Zustande besitzen, da dieselben meistens vor dem Zerreiben eine Zeit lang im Trockenschrank gewesen waren. Bei denjenigen Objecten, bei denen letzteres nicht der Fall war, wurden für je eine Bestimmung die abgewogenen Substanzmengen vor der Extraction mit Aether über Schwefelsäure getrocknet. Diese Massregel wird bekanntlich jetzt für erforderlich erklärt, um bei Bestimmung des Fettgehalts vegetabilischer Substanzen genaue Zahlen zu erhalten; doch hat man keinen Grund, anzunehmen, dass sie auch bei Bestimmung des Lecithingehalts das Resultat beeinflusst (auch aus den nicht zuvor getrockneten Samen werden durch Aether keine Phosphate extrahirt).

Lupinen I.

Die Samen wurden vor der Verwendung entschält. 100 Th. Samen (wasserfrei) lieferten 26,4 Th. Schalen (wasserfrei).

1.	10,3096 gr.	schalenfreie	Trockensubstanz	gaben	0,0312	gr.	$Mg_2P_2O_7$.
2.	9,7102	»	»	»	0,0270	»	»
3.	10,8028	»	»	»	0,0302	»	»
4.	20,4700	»	»	»	0,0604	»	»

Im Mittel aus diesen vier Bestimmungen berechnet sich der Lecithingehalt der schalenfreien Samentrockensubstanz auf 2,10%, für die Samen inclusive Schalen auf 1,55% (in den Samenschalen war kein Lecithin enthalten).

Lupinen II.

9,5320 gr. schalenfreie Trockensubstanz gaben 0,0284 gr. $Mg_2P_2O_7$.

Der Lecitthingehalt berechnet sich demnach auf 2,16 %. Für die Samen inclusive Schalen berechnet sich ein Lecithingehalt von 1,59 %, unter der Annahme, dass das Mengenverhältniss zwischen Samenschalen und Kernen bei dieser Sorte das gleiche war wie bei No. I.

Sojabohnen.

12,2271 gr. Trockensubstanz gaben 0,0276 gr. $Mg_2P_2O_7$.

Wicken.

1. 11,1790 gr. Trockensubstanz gaben 0,0190 gr. $Mg_2P_2O_7$.
2. 9,6601 » » » 0,0162 » »

Bohnen.

1. 8,7866 gr. Trockensubstanz gaben 0,0100 gr. $Mg_2P_2O_7$.
2. 8,8028 » » » 0,0098 » »

Weizen.

1. 9,8660 gr. Trockensubstanz gaben 0,0096 gr. $Mg_2P_2O_7$.
2. 0,6428 » » » 0,0080 » »

Roggen.

1. 9,4572 gr. Trockensubstanz gaben 0,0076 gr. $Mg_2P_2O_7$.
2. 9,4616 » » » 0,0074 » »

Gerste.

1. 9,3525 gr. Trockensubstanz gaben 0,0096 gr. $Mg_2P_2O_7$.
2. 9,7730 » » » 0,0100 » »

Lein.

1. 9,8237 gr. Trockensubstanz gaben 0,0120 gr. $Mg_2P_2O_7$.
2. 9,6661 » » » 0,0116 » »

Die Bestimmung des Trockengehalts der Leinsamen führten wir in folgender Weise aus: Eine abgewogene Quantität der in einer Reibschale möglichst gut zerkleinerten Samen wurde mit Aether extrahirt, der Extract der Destillation unterworfen, das zurückbleibende Fett im Wasserstoffstrom getrocknet und gewogen. Den bei der Extraction mit Aether bleibenden Rückstand brachten wir auf ein getrocknetes und gewogenes Filter, trockneten ihn bei 105 Grad und bestimmten sodann sein Gewicht. Aus der Differenz zwischen dem Gewicht der Samen und der Summe der Gewichte des Fettes und des extrahirten Rückstandes ergab sich der Wassergehalt der Samen.

Beitrag zur Kenntniss des Verhaltens des Harnes bei der Melanurie.

Von

Prof. Dr. R. v. Jaksch (Graz).

(Der Redaction zugegangen am 5. Februar 1889.)

Unsere Kenntnisse über die Eigenschaften des Harnes bei Anwesenheit von Melanogen oder Melanin sind noch immer recht dürftig. Die nachfolgenden Beobachtungen sollen versuchen, diese Lücken etwas auszufüllen.

Das zu diesen Untersuchungen verwendete Material erhielt ich aus der Klinik des Prof. Nothnagel. Es stammte von zwei Fällen, welche im Verlaufe des letzten Jahres daselbst beobachtet wurden. In beiden Fällen handelte es sich um melanotische Tumoren[1]). Im ersten Falle wurden in dem etwas trüben und dunkelgefärbten Harne, welcher eine Dichte von 1,0184 aufwies, geringe Mengen von Eiweiss nachgewiesen. Beim Behandeln mit dem Nylander'schen Reagens wurde der Harn schwarz gefärbt; doch konnte ich mit anderen Proben keinen Zucker nachweisen. Beim Kochen des Harnes mit Natronlauge (Heller'sche Blutprobe) bildeten sich beim Erkalten braune Flocken. Er enthielt kein Aceton und keine Acetessigsäure. Mit Chromsäure (5% Lösung) lieferte der Harn einen schwarzen Niederschlag, Schwefelsäure gab eine intensive, schwarzbraune Färbung, Salzsäure eine allmählig eintretende Rothfärbung, Phosphorsäure und Essigsäure zeigten

[1]) Ich danke Herrn Prof. Nothnagel, als auch seinen Herren Aasistenten Dr. Bamberger und Dr. Lorenz bestens für die Ueberlassung des Untersuchungsmateriales.

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

bemerken, dass die blaue Farbe rasch in einen schmutzig lben Farbenton überging. Wurde statt Natron- oder Kaliuge Ammoniak zu der Probe verwendet, so trat die Reaction othfärbung) erst allmählig ein. Wurde sehr verdünnter arn verwendet, so zeigte sich auf Zusatz von Natriumtroprussid und Kalilauge ein leichter, rasch schwindender, hwarzer Niederschlag, dann nahm die Probe einen Lilarbenton an und ging auf Zusatz von Essigsäure in Preussischau über.

Dies sind die Beobachtungen, welche ich mir über die ntersuchung des ersten, derartigen Falles notirt habe. Wenn ie nicht so vollständg sind, wie es der Zweck meiner heutigen littheilung erfordert, so möge man die Entschuldigung darin nden, dass ich zur Zeit, als ich die Beobachtungen anstellte — wie es ja im Drange der klinischen Untersuchungen sich ft ereignet — nicht voraussah, dass dieselben für mich auch ald klinisches Interesse gewinnen würden.

Ueber die Untersuchung des zweiten Falles habe ich Folgendes zu berichten.

Der Harn war ziemlich dunkel gefärbt, etwas trüb und gab mit Eisenchloridlösung einen intensiv schwarzen Niederschlag. Mit Natriumnitroprussid, Kalilauge und anorganischen Säuren aller Art nahm er eine grün-blaue Färbung an, welche nach 24 Stunden bereits einem braun-grünen Farbentone des Flüssigkeitsgemenges Platz gemacht hatte, während am Boden des Gefässes sich ein blauer Niederschlag abgesetzt hatte. Bezüglich der Reaction mit Natriumnitroprussid, Kali- oder Natronlauge ist noch Folgendes zu bemerken: Dieselbe tritt mit allen weiter unten erwähnten, organischen und anorganischen Säuren ein. Mit Salpetersäure, Salzsäure (concentrirt) entstand — wie erwähnt — nach 24 Stunden ein blauer Niederschlag, desgleichen mit Essigsäure. Die Reaction mit Buttersäure zeigte eine grüne Farbe, die Probe mit Milchsäure war fleischfarben, mit verdünnter Schwefel- und Ameisensäure roth gefärbt. Führt man die Probe statt mit Natron- oder Kalilauge mit Ammoniak aus, so tritt erst allmählig eine leichte Rothfärbung ein, die auf Zusatz von Säuren in Grün übergeht. Diese Farbe schwindet

rasch; nach 24 Stunden findet man in der Ammoniakprobe einen leichten, weisslichen Niederschlag. Bei Verwendung von Bariumhydroxid — statt Natron- oder Kalilauge — tritt ein leicht roth gefärbter Niederschlag auf, der auf Säurezusatz in Grün übergeht, nach 24 Stunden hat sich ein leichter, violett gefärbter Niederschlag abgesetzt.

Es wurden dann nochmals 100 cbcm. Harn mit Natriumnitroprussid und Kalilauge versetzt; auf Zusatz von Essigsäure trat eine prachtvolle blaue Farbe, allmählig ein Niederschlag auf. Derselbe wurde abfiltrirt und mit grossen Mengen Wassers ausgewaschen. Das grünlich gefärbte Filtrat nahm auf Zusatz von Natronlauge einen leicht gelben Farbenton an, wurde auf Zusatz von Salzsäure wieder grünlich gefärbt und auf Zusatz von überschüssiger Salzsäure entfärbt. Dieses klare, stark salzsäurehaltige Filtrat liefert mit Eisenchlorid eine grüne Farbe, welche später einem blauen Farbstoffniederschlage Platz macht. Es spricht also dieses Verhalten dafür, dass das Filtrat eine lösliche Modification von Berlinerblau enthalten hat. Der intensiv blaue, am Filter gebliebene, sorgfältig ausgewaschene Niederschlag wird in wenig warmer, verdünnter Natronlauge gelöst; es geht dann ein violetter Farbstoff in das alkalische Filtrat über. Diese Lösung zeigt ein ziemlich breites, aber wenig intensives Absorptionsband zwischen den Farben Gelb und Grün des Sonnenspectrums. Die alkalische, violette Lösung geht auf Zusatz von Salzsäure in Blau über, auf Zusatz von grösseren Mengen Salzsäure wird sie farblos und etwas getrübt, das klare Filtrat liefert mit Eisenchloridlösung einen allmählig eintretenden, blauen Niederschlag. Am Filter ist nunmehr ein nur geringer Niederschlag verblieben, der auf weiteren Zusatz von Kalilauge sich mit leicht röthlicher Farbe löst, auf Zusatz von Salzsäure sich so verhält, wie die violette Lösung. Beim Behandeln mit Salzsäure und Eisenchlorid gibt er einen allmählig eintretenden, blauen Niederschlag. Wird ein Theil des mit Wasser sorgfältigst ausgewaschenen — wie die mikroskopische Untersuchung zeigte — aus blauen Schollen bestehenden Niederschlages mit Natronkalk erhitzt, so liefert er ammoniakalische Dämpfe. Er

enthält also Stickstoff. Dieser Versuch wurde wiederholt ausgeführt und stets das gleiche, oben beschriebene Resultat erhalten. Es kann nach alldem wohl keinem Zweifel unterliegen, dass der aus Natriumnitroprussid, Kalilauge und Säuren in solchen Harnen sich bildende Farbstoff Berlinerblau ist, welches zum Theile in einer in Wasser löslichen, zum Theile unlöslichen Modification aufgetreten ist.

Eine weitere Portion, circa $1^1/_2$ Liter, des mir übersandten, melaninhaltigen Harnes verhielt sich folgendermassen: Der Harn reagirte sauer, seine Dichte betrug 1,028, er enthielt kein Eiweiss [I., II., III. Probe negativ[1])]. Bei Ausführung der Trommer'schen Probe entfärbte sich der Harn etwas, mit dem Nylander'schen Reagens gab er einen leichten, schwarzen Niederschlag, die Phenylhydrazinprobe ergab ein negatives Resultat. Beim Kochen mit Kalilauge trat ein leicht dunkel gefärbter Phosphatniederschlag auf; Indican war in mässigen Mengen vorhanden. Der Harn enthielt kein Aceton (Lieben'sche Jodoformprobe mit dem Destillate ergab ein negatives Resultat). Gegen Säuren verhielt sich der Harn wie folgt:

Concentrirte Salpetersäure: Rothschwarze Färbung, nach 16 Stunden ist die Probe braunschwarz gefärbt, etwas trüb, eigenthümlich aromatisch riechend.

Concentrirte Schwefelsäure: Rothschwarze Färbung, dann Trübung und etwas Niederschlag; nach 16 Stunden ist eine schwarze Färbung entstanden, am Boden des Reagensglases befand sich ein lichter Niederschlag.

Verdünnte Schwefelsäure:	Leichte Rothfärbung.
Chromsäure:	Schwarzbraune Färbung.
Phosphorsäure:	Schwache rothbraune Färbung.
Essigsäure:	Schöne, rothe Farbe.
Buttersäure:	Leichte Rothfärbung.
Phosphormolybdänsäure und Verdünnte Schwefelsäure:	Schwarzgrüner Niederschlag, der nach 16 Stunden intensiv grün gefärbt ist.
Phosphorwolframsäure:	Violettrother Niederschlag.
Phosphorwolframsäure und Verdünnte Schwefelsäure:	Etwas schwarzvioletter Niederschlag.

[1]) Siehe: v. Jaksch, Klinische Diagnostik, 2. Aufl., S. 265 u. 266. Urban und Schwarzenberg, 1889.

Die durch Einwirkung der oben erwähnten Säuren, desgleichen auch mit Eisenchlorid entstandene Färbung eines solchen Harns schwindet nicht bei Anwendung reducirender Mittel. (Siehe unten.)

Gegen Salzlösungen und alkalische Erden verhielt sich der Harn folgendermassen:

10% Bleizuckerlösung: Intensiver, leicht grauer Niederschlag, der auf Zusatz von Eisenchlorid sich schwarz färbte. Wurde der mit dieser Lösung erhaltene Niederschlag mit Alkohol behandelt, so resultirte ein beinahe farbloses Filtrat. Beim Behandeln mit saurem (mit etwas verdünnter Schwefelsäure versetztem) Alkohol ging ein rother Farbstoff in das Filtrat, der im Spectralapparate ein breites, im rothen Theile des Spectrums beginnendes Absorptionsband zeigte. Eine Probe desselben lieferte im Wasserbade eingedampft einen eigenthümlich riechenden, schwarzen, schmierigen Rückstand.

Chlorbarium: Grauer Niederschlag, der sich auf Zusatz von Eisenchloridlösung dunkler färbt. Das Filtrat mit Eisenchloridlösung versetzt nimmt eine schwarze Farbe an.

Kalkmilch: Gelblicher Niederschlag, der auf Zusatz von Eisenchloridlösung mehr braungelb gefärbt wurde.

Mit Eisenchloridlösung versetzt zeigte der Harn folgendes Verhalten: Durch eine 10% Eisenchloridlösung wurde nur ein Theil des Farbstoffes gefällt; das klare, schwarzbraune Filtrat zeigte im Spectralapparate ein breites Absorptionsband, welches bei Roth beginnend gegen das violette Ende des Spectrums an Intensität zunahm. Auch ganz verdünnte, kaum gelb gefärbte Eisenchloridlösungen gaben mit solchen Harnen eine leichte, schwarzbraune Trübung, mittelstarke gaben einen weissgrauen Niederschlag; das Filtrat wiederum mit Eisenchloridlösung versetzt, zeigte dann neuerdings eine dunkle Färbung und einen leichten Niederschlag. Setzt man Eisenchloridlösung im Ueberschusse zu, so schwindet der graue Niederschlag, der schwarze jedoch bleibt bestehen und kann abfiltrirt und gereinigt werden. Wird Eisenchloridlösung in sehr grosser Menge zugesetzt, so löst sich der entstandene, schwarze Niederschlag wieder auf. Aus alldem ergibt sich, dass wir in der Eisenchloridlösung ein sehr bequemes und empfindliches Reagens auf Melanogen oder Melanin besitzen.

Bezüglich des mittels Fällung durch Eisenchloridlösung erhaltenen Farbstoffes bin ich in folgender Weise vorgegangen: Der Niederschlag wurde mit viel kaltem, destillirtem Wasser gewaschen und dann wiederholt mit heissem Wasser ausgekocht. Er ist unlöslich in Alkohol, löst sich in Kalilauge und Salzsäure mit röthlicher Farbe. Die alkalische Lösung des Farbstoffes gibt keine Reaction mit Kalilauge, Natriumnitroprussid und Essigsäure. Der schwarze Farbstoff löst sich weiter noch in folgenden Substanzen: In Salpetersäure in der Kälte mit rothbrauner Farbe, beim Kochen tritt dann nach und nach eine gelbe Färbung ein; fast ebenso verhält er sich gegen concentrirte Salzsäure. In concentrirter Schwefelsäure löst er sich in der Kälte mit etwas grünbrauner Farbe, beim Kochen mit Schwefelsäure tritt ein schwarzer Niederschlag auf; auch in verdünnter Schwefelsäure ist er löslich. Der Farbstoff löst sich ferner in mässig concentrirter Fluorwasserstoffsäure, wird dabei jedoch etwas entfärbt. Er ist löslich in heisser Ameisen- und Milchsäure, und zwar liefert er eine schwarzbraune Lösung; wenig löslich ist er in kalter Ameisen- und Milchsäure. Fast unlöslich ist er in heisser Butter- und Essigsäure, ferner unlöslich in Chloroform, Glycerin, Terebinthenöl, Benzol, Petroleumäther, Methylalkohol. Der Farbstoff wird durch reducirende Mittel (Natriumamalgam) nicht zerstört. Der schwarze Niederschlag verbrennt beim Glühen am Platinbleche unter Hinterlassung einer röthlichen Asche, welche aus Eisenoxyd besteht, wie durch die Rhodankaliumreaction nachgewiesen wurde. Dieselbe Reaction beobachtet man, wenn man den mit 10% Bleizuckerlösung erhaltenen, grauen Niederschlag glüht. Es rührt also sein Eisengehalt nicht von den ihm etwa noch anhaftenden Mengen von Eisenchlorid her, durch welches er aus dem Harne isolirt wurde. Mit etwas Natronkalk erhitzt stösst der schwarze Farbstoff Ammoniakdämpfe aus, er enthält also Stickstoff. Ferner enthält er Schwefel, was sich aus folgendem Verhalten ergibt: Der schwarze Körper wird mit reinem, kohlensaurem Natron eingedampft, dann etwas Salpeter zugesetzt, geschmolzen, wiederholt mit Salzsäure eingedampft, endlich in Wasser gelöst, mit Salzsäure versetzt und filtrirt.

Das klare Filtrat liefert auf Zusatz von Chlorbarium schwefelsauren Baryt. Nach den hier aufgeführten Eigenschaften des Farbstoffes dürfte es wohl keinem Zweifel unterliegen, dass er identisch ist oder sich sehr ähnlich verhält, wie jenes schwarze Pigment, das Mörner[1]) aus dem Harne eines an melanotischen Tumoren leidenden Individuums gewann, und zwar mit jenen Portionen des Farbstoffes, welche in Essigsäure[2]) unlöslich waren. Mit Rücksicht auf die ausführlichen und erschöpfenden Angaben von Mörner habe ich Abstand genommen, weitere Untersuchungen über das chemische Verhalten des Farbstoffes auszuführen. Auch schien es mir deshalb unnöthig, quantitative Bestimmungen des Eisen-, Schwefel- oder Stickstoff-Gehaltes zu machen, um so mehr, als es mir trotz mancher Versuche nicht gelang, diesen Farbstoff in krystallinischer Form zu erhalten, und als ich weiter die Ueberzeugung gewann, dass es sich nicht um einen Farbstoff, sondern um ein Gemenge verschiedener Farbstoffe handelt. Die erschöpfenden Literaturangaben, welche Mörner[3]) in seiner Arbeit aufgeführt hat, und denen ich nichts hinzuzufügen habe, entheben mich der Mühe, dieselben hier aufzuführen. Ich habe aber das Verhalten des Harnes in solchen Fällen deshalb so detaillirt geschildert, weil es allenfalls für spätere Bearbeiter dieser Frage von Interesse sein kann, über diese Dinge orientirt zu sein.

Ich will weiter an der Hand der hier niedergelegten Thatsachen die Frage erörtern, in wieweit die Berlinerblaureaction — so dürften wir wohl jetzt die von Thormählen und H. Lorenz in solchen Harnen aufgefundene Reaction mit Natriumnitroprussid, Kalilauge und Säure nennen — klinische Bedeutung hat. Kann man sie für die Diagnose der Melanurie verwerthen?

Dass sie dem pathologischen Farbstoffe, dem Melanin, als solchem nicht zukommt, ist aus den hier mitgetheilten

---

[1]) Mörner, Zeitschrift f. physiologische Chemie, Bd. 11, S. 66, 1887.

[2]) Mörner, l. c., S. 95 u. 109.

[3]) Mörner, l. c., S. 141; siehe auch v. Jaksch, Klinische Diagnostik, 2. Auflage, l. c., S. 316.

Beobachtungen ersichtlich, denn der Farbstoff als solcher in Kalilauge gelöst gibt mit Natriumnitroprussid, Kalilauge und Säure keine derartige Reaction.

Es wäre nun naheliegend anzunehmen, dass ausser dem aus solchen Harnen isolirten Farbstoffe, dem Melanin oder den Melaninen, vielleicht noch ein anderer für die Melanurie charakteristischer Farbstoff ausgeschieden wird, dessen Anwesenheit durch dieses oben geschilderte Verhalten des Harnes angezeigt wird — aber auch diese Ansicht hält einer kritischen Beleuchtung nicht Stand. Dreschfeld (l. c.) hat das gleiche Verhalten des Harnes gefunden in einem diabetischen Harne. Ich fand jüngst die gleiche Reaction bei einem dreijährigen Kinde, welches an Coprostase und leichten Verdauungsstörungen litt und bei dem jeder Verdacht auf das Vorhandensein einer Melanurie ausgeschlossen war. Der mit Natriumnitroprussid, Kalilauge und Essigsäure in der oben wiederholt beschriebenen Weise behandelte Harn lieferte Berlinerblau. Bei Untersuchung des Niederschlages bin ich so vorgegangen, wie ich es oben beschrieben habe. In diesem Falle zeigte die Reaction mit Eisenchlorid kein Vorhandensein von Melanin, wohl aber von Acetessigsäure an, und die weitere Untersuchung ergab, dass der Harn enorm reich an indigoliefernden Substanzen war. Die Diaceturie, Indicanurie, sowie die wiederholt erwähnte Berlinerblau-Reaction verschwand sofort, als die bei dem Kinde bestehende Coprostase behoben wurde. Es kann deshalb diese Reaction für die Diagnose einer bestehenden Melanurie nur mit Reserve verwerthet werden, und zwar nur dann, wenn durch andere Reactionen (Eisenchloridlösung) Melanin mit Sicherheit nachgewiesen wurde.

Ich möchte hier nochmals darauf aufmerksam machen, dass die durch meine Untersuchungen in allen Punkten bestätigten Beobachtungen von Krukenberg (l. c.) und Salkowski (l. c.) bereits gezeigt haben, dass man bei Einwirkung von Essigsäure in der Wärme auf die mit Harn erhaltene Reaction mit Natriumnitroprussid und Kalilauge blaue Färbungen erhält, welche — wie bereits erwähnt — die genannten

Autoren als Berlinerblau ansprachen. Es scheint also, dass bei der Melanurie sowohl, als in allen anderen Fällen, wo man diese Reaction findet, es sich um eine vermehrte Ausscheidung eines auch im normalen Harne vorkommenden, unter diesen Umständen Berlinerblau liefernden Körpers handelt. Allerdings verhält sich im normalen Harne dieser Körper etwas anders, es tritt erst nach dem Kochen der Probe die Bildung von Berlinerblau ein, während in den oben erwähnten pathologischen Fällen die Probe bereits in der Kälte eintritt [1] [2]).

Zum Schlusse möchte ich noch die in diesen Beobachtungen enthaltenen Thatsachen in wenigen Worten kurz zusammenfassen.

1. Das empfindlichste Reagens zum Nachweise einer bestehenden Melanurie haben wir in einer Eisenchloridlösung, welche auch in grosser Verdünnung melanogen- oder melaninhaltige Harne schwarz färbt.

2. Der in solchen und ähnlichen Harnen mit Nitroprussidsalzen, Laugen und Säuren entstehende Farbstoff ist Berlinerblau.

3. Diese Berlinerblau-Reaction hängt jedoch mit der Ausscheidung von Melanogen und Melanin nicht zusammen. Sie findet sich auch in anderen — wie es scheint — vor allem an indigoliefernder Substanz reichen Harnen.

---

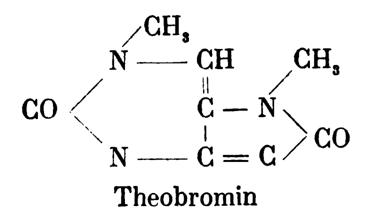
[1]) Fäces geben in der Wärme mit Natriumnitroprussid die gleiche Reaction.

[2]) Vielleicht beruhen solche Reactionen auf dem Auftreten von Indol (?) im Harne, und würde dadurch das Auftreten einer solchen Reaction in an indigoliefernden Substanzen reichem Harne erklärt werden, indem ein Theil dieses Körpers der Oxydation im Organismus entgeht. Eine Bemerkung von Salkowski, l. c., S. 128, zeigt, dass nämlich Indol unter solchen Verhältnissen Berlinerblau liefern kann. Damit wäre aber noch immer nicht das Auftreten einer solchen Reaction in dem nur mässig indicanreichen Harne (Fall 2 meiner Beobachtungen) erklärt.

Druckfehler.

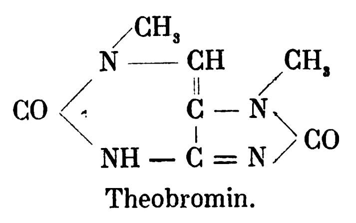
Im vorigen Heft, Band XIII, Seite 308, ist folgende Correctur anzubringen.

Statt:



Theobromin

muss es heissen:



Theobromin.



Ein Beitrag zur Kenntniss des Adenins.

Von

G. Thoiss.

(Mitgetheilt von A. Kossel.)

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 5. Februar 1889.)

Die Untersuchungen über das Adenin[1]) haben noch nicht zu einer Kenntniss der Constitution dieses für die fundamentalen Lebenserscheinungen höchst wichtigen Polymeren der Blausäure geführt. Das Adenin setzt der Einwirkung spaltender und oxydirender Mittel einen grossen Widerstand entgegen. Es bleibt bei gelinder Einwirkung derselben unzersetzt, wird hingegen bei stärkerer Wirkung völlig zerspalten, ohne dass sich aus den Bruchstücken ein Schluss auf die Constitution ziehen liesse. Ich habe deshalb zunächst versucht, durch synthetische Versuche Aufschluss über diese Base zu erhalten. In einer früheren Mittheilung habe ich gezeigt, dass das Adenin ein Wasserstoffatom enthält, welches durch Säureradicale, durch die Acetyl- und Benzoylgruppe substituirt werden kann. Herr Thoiss hat es auf meine Veranlassung unternommen, die Producte zu untersuchen, welche durch die Einführung von Alkoholradicalen in das Adenin entstehen, um aus diesen Experimenten Schlüsse auf den chemischen Charakter dieser Base zu ziehen. Es geht aus diesen Versuchen hervor, dass die Methyl- und die Benzylgruppe in das Adenin eingeführt werden kann; indess gelang es nur, das Benzylsubstitutionsproduct in reinem Zustand darzustellen.

Wenn man Adeninsilber, welches sorgfältig getrocknet ist, mit Jodmethyl im geschlossenen Rohr auf 100° erhitzt, so bildet sich ein Methylsubstitutionsproduct, welches in Alkohol löslich und durch Aether aus alkoholischer Lösung fällbar ist. Die Verbindung kann aus absolutem Alkohol umkrystallisirt werden. Die Krystalle ergaben indess keine scharf stimmenden

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. X, S. 250, Bd. XII, S. 241.

Zahlen bei der Analyse, so dass ich von der Aufstellung einer Formel noch absehe. Wahrscheinlich enthielt das entstandene Product in allen Fällen noch angelagertes Jodmethyl.

Zu besseren Resultaten führte die Einwirkung des Benzylchlorids. Die Darstellung des Benzyladenins geschieht in folgender Weise:

5 gr. reines, sorgfältig getrocknetes Adenin wird mit der fünffachen Menge Benzylchlorid in einem Kölbchen im Oelbade zum Sieden des Benzylchlorids (178°) erhitzt. Nach halbstündiger Einwirkung beginnt das Benzylchlorid sich zu bräunen, während das Aussehen des Adenins sich nicht ändert. Die ganze Masse wird jetzt filtrirt und der auf dem Filter gebliebene Rückstand mit Aether und zuletzt mit Alkohol vollständig ausgewaschen. Die vom überschüssigen Benzylchlorid befreite Substanz wurde nun in siedendem Wasser gelöst und die Lösung mit Natronlauge versetzt. Die freie Base fällt als krystallinische Masse aus. Das Benzyladenin ist eine rein weisse Substanz, welche aus mikroskopischen Krystallen besteht. Es ist in heissem Wasser und in heissem Alkohol leicht löslich. In Säuren löst es sich unter Bildung von Salzen leicht auf und wird durch Alkalien aus dieser Lösung als freie Base gefällt. Die Base schmilzt bei 259°.

Die Analysen ergaben folgendes Resultat:

1. 0,2134 gr. Substanz bei 110° getrocknet gaben 0,5010 gr. CO_2 und 0,0983 gr. H_2O.
2. 0,2449 gr. Substanz gaben 0,5741 gr. CO_2 und 0,1136 gr. H_2O.
3. 0,2460 gr. Substanz gaben 0,5753 gr. CO_2 und 0,1101 gr. H_2O.
4. 0,1052 gr. Substanz gaben bei 18,2° und 768 mm. Bar. 28 cbcm. Stickstoff.

Berechnet für $C_5H_4N_5 - CH_2 - C_6H_5$:	Gefunden:			
	I.	II.	III.	IV.
C = 64,00	64,03	63,93	63,78	—
H = 4,89	5,12	5,15	4,97	—
N = 31,11	—	—	—	31,05

Das Benzyladenin bildet sich mit Säuren gut krystallisirende Salze, von welchen folgende dargestellt wurden.

Pikrinsaures Benzyladenin $C_{12}H_{11}N_5, C_6H_2(NO_2)_3OH$. Eine alkoholische Lösung Benzyladenin wurde mit einer alkoholischen Lösung von der äquivalenten Menge Pikrinsäure

gefällt. Der nach kurzer Zeit entstehende Niederschlag wurde durch Umkrystallisiren aus verdünntem Alkohol gereinigt und mit Aether gewaschen. Das pikrinsaure Benzyladenin erscheint als wollige Masse, die aus feinen, verfilzten, gelben Nadeln zusammengesetzt ist. Das Salz ist in Aether unlöslich, in Alkohol und Wasser ziemlich löslich.

Die Analyse ergab:

0,2460 gr. Substanz gaben 0,4238 gr. CO_2 und 0,0752 gr. H_2O.

0,1158 gr. Substanz gaben bei 16,3° und 748 mm. Bar. 25 cbcm. Stickstoff.

	Berechnet für $C_{18}H_{24}N_8O_7$:	Gefunden:
C =	47,57	47,00
H =	3,08	3,39
N =	24,67	24,66

Das salzsaure Benzyladenin bildet feine, glasglänzende Nadeln, welche in Alkohol und Wasser leicht löslich, in Aether unlöslich sind.

Aehnliche Eigenschaften besitzt das schwefelsaure und salpetersaure Benzyladenin. Ebenso wie das Adenin bildet auch das Benzyladenin eine Silberverbindung, die in Ammoniak unlöslich ist und aus ammoniakalischer Lösung gefällt werden kann.

Unterwirft man Adenin der Einwirkung des aus Zink und Salzsäure sich entwickelnden Wasserstoffs, so bildet sich, wie ich vor einiger Zeit dargethan habe, ein Reductionsproduct, welches sehr unbeständig ist und sich in alkalischer Lösung in Azulminsäure verwandelt. Ganz ähnlich verhält sich das Benzyladenin. Digerirt man dasselbe mit Zink und Salzsäure und fügt man zu der sauren Lösung so viel Natronlauge, dass das Zink in Lösung bleibt, so entsteht eine weinrothe Färbung, später scheidet sich ein rother Niederschlag ab. Dies Product ist amorph und erwies sich bei den Versuchen, dasselbe zu reinigen, als unbeständig, so dass von einer Analyse desselben kein Aufschluss erwartet werden durfte.

Das Adenin und das Hypoxanthin enthalten nach meinen früheren Versuchen eine Gruppe von der Zusammensetzung $C_5H_4N_4$. Bezeichnet man diese Gruppe als «Adenyl», so ist das Adenin ein Adenylimid $C_5H_4N_4NH$, während das Hypo-

xanthin als Adenyloxid $C_5H_4N_4O$ aufzufassen ist. Die weitere Versuche von Herrn Thoiss waren nun darauf gerichtet, die Frage zu entscheiden, ob das durch die Benzylgruppe substituirte Wasserstoffatom dem Adenylrest oder der Imidgruppe angehört. Im ersteren Falle war vorauszusetzen, dass die Ersetzung von NH durch O beim substituirten Adenin in derselben Weise vor sich geht, wie bei dem nicht substituirten, dass also aus dem Benzyladenin durch salpetrige Säure Benzylhypoxanthin gebildet wird. Der gleich zu beschreibende Versuch hat diese Voraussetzung bestätigt.

1 gr. Benzyladenin wurde in 10 cbcm. Schwefelsäure gelöst und dann unter gelindem Erwärmen allmählig 2 gr. salpetrigsaures Kali hinzugefügt. Nachdem in der Wärme allmählig der Ueberschuss an salpetriger Säure vertrieben war, wurde abgekühlt und die Flüssigkeit mit Natronlauge neutralisirt. Es fiel eine braune, harzige Masse aus, die an die Wandungen des Gefässes anklebte. Dieselbe wurde zunächst aus Wasser, später aus Alkohol umkrystallisirt und als eine fast rein weisse, krystallinische Masse erhalten. Unter dem Mikroskop zeigte sich, dass sie aus dünnen Plättchen bestand.

Dieser Körper ist leicht löslich in heissem Wasser, verdünntem Alkohol und in Essigäther, unlöslich in Aether und Chloroform. Er schmilzt bei 280°.

Die Analyse führte zu folgendem Resultat:

0,2547 gr. Substanz bei 110° getrocknet gaben 0,5925 gr. CO_2 und 0,1158 gr. H_2O.

0,1520 gr. Substanz bei 16° und 754 mm. Bar. gaben 33,6 cbcm. N.

Berechnet für $C_5H_3N_4O-CH_2-C_6H_5$:		Gefunden:
C	= 63,72	63,45
H	= 4,42	5,05
N	= 24,78	25,63

Nach diesen Ergebnissen muss die analysirte Substanz als Benzylhypoxanthin betrachtet werden.

Es ergiebt sich somit aus den Untersuchungen des Herrn Thoiss, dass die im Adenin und Hypoxanthin enthaltene Gruppe $C_5H_4N_4$ («Adenyl») ein Wasserstoffatom enthält, welches durch Alkoholradicale ersetzt werden kann.

Ueber die Aufnahme des Eisens in den Organismus des Säuglings.

Von

G. Bunge,
Prof. d. physiol. Chemie in Basel.

(Der Redaction zugegangen am 6. Februar 1889.)

Bei meinen Analysen der Milchasche[1]) musste mir der geringe Eisengehalt derselben auffallen. Während alle anderen Bestandtheile in der Milchasche fast genau in demselben Gewichtsverhältnisse enthalten waren wie in der Gesammtasche des Säuglings, war die Menge des Eisens in der Milchasche weit geringer; sie betrug in der Asche der Hundemilch nur $^1/_3$ von der Eisenmenge in der Asche eines 5 Tage alten Hundes.

Ich hatte anfangs auf diese Thatsache kein grosses Gewicht gelegt. Ich dachte mir, die Menge der eingeäscherten Milch sei vielleicht für eine genaue Eisenbestimmung zu gering gewesen. Aber meine Bestimmungen waren nach den genauesten Methoden ausgeführt worden und zwar stets doppelt, durch Gewichtsanalyse und durch Titration; auch sind die Ergebnisse derselben neuerdings durch eine Reihe sorgfältiger Analysen von Mendes de Leon[2]) bestätigt worden. Ich beschloss, mich nochmals durch eine genaue vergleichende

---

[1]) G. Bunge, Zeitschrift f. Biologie, Bd. 10, S. 295, 1874; Du Bois-Reymond's Archiv, 1886, S. 539, und Lehrbuch der physiol. u. patholog. Chemie, Leipzig 1887, S. 98 u. 99.

[2]) M. A. Mendes de Leon, Archiv f. Hygiene, Bd. VII, S. 286, 1886.

Analyse der Milchasche und der Asche des Säuglings von der Richtigkeit meiner früheren Resultate zu überzeugen und dabei der Eisenbestimmung eine ganz besondere Aufmerksamkeit und Sorgfalt zuzuwenden[1]).

Bei einer solchen vergleichenden Analyse hat man mit der Schwierigkeit zu kämpfen, dass eine zur genauen Bestimmung aller Aschenbestandtheile genügende Menge Milch nur von grösseren Thieren zu beschaffen ist, die Jungen dieser Thiere aber für die Einäscherung zu gross sind. Ich hatte mir bei den früheren Analysen dadurch geholfen, dass ich die Jungen von einer kleinen Hündin, die Milch dagegen von anderen, von grossen Hündinnen nahm. Dieses Mal wählte ich eine Hündin von mittlerer Grösse (24 kgr.). Ich tödtete ein Junges wenige Stunden nach der Geburt, noch bevor es gesogen hatte, um die von der Milchnahrung noch ganz unbeeinflusste Zusammensetzung der Asche festzustellen. Ich sammelte darauf im Laufe der nächsten 14 Tage Milch von derselben Hündin. Das Ergebniss der Aschenanalysen, deren Methode und genauere Zahlenbelege weiter unten mitgetheilt werden, war folgendes:

	Der neugeborene Hund enthielt auf 1 kgr. Körpergewicht:	Auf 1 kgr. Milch kamen:
K_2O	2,555	1,701
Na_2O	2,380	1,000
CaO	6,602	3,093
MgO	0,407	0,175
Fe_2O_3	0,160	0,014
P_2O_5	8,816	3,886
Cl	1,867	1.919
	22,787	11,788
Sauerstoffäquivalent des Cl:	0,421	0,433
Asche:	22.366	11,355

[1]) Ich hatte mir inzwischen durch die Analyse des Hämatogens und Hämoglobins in der Ausführung von Eisenbestimmungen eine noch grössere Uebung und Sicherheit erworben. Siehe diese Zeitschrift, Bd. 9. S. 49, 1884, Bd. 10, S. 16, 1885, und Bd. 12, S. 285, 1888.

Auf 100 Gewichtstheile Asche kommen:

	Neugeborener Hund:	Hundemilch:
K_2O	11,42	14,98
Na_2O	10,64	8,80
CaO	29,52	27,24
MgO	1,82	1,54
Fe_2O_3	0,72	0,12
P_2O_5	39,42	34,22
Cl	8,35	16,90
	101,89	103,80
Sauerstoffäquivalent des Cl:	1,88	3,81
	100	100

Wenn wir von dem Eisengehalt absehen, so ist die Uebereinstimmung eine sehr vollständige. Der Säugling erhält alle Aschenbestandtheile in dem Verhältnisse, in welchem er ihrer zu seinem Wachsthum bedarf. Dass die Milchasche etwas kalireicher und natronärmer ist als die Asche des neugeborenen Thieres, findet eine teleologische Erklärung darin, dass in dem wachsenden Thiere die kalireiche Muskulatur relativ zunimmt, die natronreichen Knorpel relativ abnehmen. Durch eine Reihe von Analysen habe ich die Abnahme des Natron- und die Zunahme des Kaligehaltes im wachsenden Thiere thatsächlich nachgewiesen. Auch der höhere Chlorgehalt der Milchasche ist teleologisch zu erklären. Die Chloride dienen nicht blos zum Aufbau der Gewebe; es scheint, dass sie bei der Nierensecretion unentbehrlich sind, dass die stickstoffhaltigen Endproducte des Stoffwechsels nicht mit Wasser allein zur Ausscheidung gelangen können, dass mit dem Wasser stets auch Chloride müssen ausgeschieden werden. Dafür spricht unter Anderem die Thatsache, dass die Diuretica zugleich die Chlorausscheidung steigern.

Die Zweckmässigkeit der Uebereinstimmung in der quantitativen Zusammensetzung der Asche des Säuglings und der Milch besteht hauptsächlich darin, dass dadurch die grösstmögliche Sparsamkeit erzielt wird. Der mütterliche Organismus giebt nichts ab, was von dem Säugling nicht verwerthet wird. Jeder Ueberschuss an einem Aschenbestandtheil in der

Milch könnte beim Aufbau der Gewebe des Säuglings kein Anwendung finden; er wäre verschleudert.

Diese ganze wunderbare Zweckmässigkeit scheint nun vollständig vereitelt zu sein durch den geringen Eisengehalt der Milch!

Der Eisengehalt der Milchasche ist 6 mal geringer als der der Asche des Säuglings! Somit scheint der mütterliche Organismus von allen anderen anorganischen Stoffen dem Säugling 6 mal so viel abzugeben, als er braucht. Nur $^1/_6$ kann zum Aufbau der Organe verwerthet werden, $^5/_6$ sind verschleudert!

Die Lösung dieses scheinbaren Widerspruches ist folgende: Der Säugling bekommt seinen Eisenvorrath für das Wachsthum der Organe schon bei der Geburt mit auf den Lebensweg. Die folgenden Analysen[1]) zeigen, dass der Eisengehalt des Gesammtorganismus bei der Geburt am höchsten ist und mit dem Wachsthum des Thieres allmählich abnimmt.

Auf 1 kgr. des Körpergewichtes kommen:

Kaninchen, gleich nach der Geburt getödtet	0,1195 Fe.
Kaninchen, 14 Tage alt	0,0441 »
Hund, 10 Stunden alt	0,1120 »
Hund, aus demselben Wurfe, 3 Tage alt	0,0964 »
Hund, aus einem anderen Wurfe, 4 Tage alt	0,0749 »
Katze, 4 Tage alt	0,0687 »
Katze, 19 Tage alt	0,0469 »

Im besten Einklange mit diesen Zahlen stehen die Resultate einer Untersuchung Zaleski's[2]). Diese Untersuchung wurde in Dorpat unter meiner Leitung begonnen. Ich habe die Eisenbestimmungen zum Theil durch eigene Analysen controlirt und kann mich für die Richtigkeit derselben verbürgen. Zaleski bestimmte den Eisengehalt in der durch Ausspülen mit Zuckerlösung blutfrei gemachten Leber eines neugeborenen und dreier ausgewachsener Hunde und fand:

---

[1]) Die genauen Zahlenbelege siehe weiter unten.

[2]) St. Szcz. Zaleski, diese Zeitschrift, Bd. 10, S. 453, 1886.

Auf 100 Gewichtstheile der bei 110° C. getrockneten Leber:

Neugeborner Hund		0,3907 Fe.
Ausgewachsene Hunde	1	0,0891 »
	2	0,0429 »
	3	0,0779 »

Der Eisengehalt der Leber ist also beim neugeborenen Thier 4 bis 9 mal so gross als beim ausgewachsenen.

Die Zweckmässigkeit dieser Einrichtung ist vielleicht in Folgendem zu suchen: Die Assimilation der organischen Eisenverbindungen[1]) ist offenbar eine sehr schwierige. Deshalb geht der mütterliche Organismus mit dem erworbenen Vorrath äusserst sparsam um. Das Quantum, welches an den Organismus des Kindes abgegeben werden muss, kann auf einem zweifachen Wege dorthin gelangen: durch die Placenta und durch die Milchdrüse. Der erstere Weg wird vorgezogen als der sicherere. Würde die Hauptmenge der organischen Eisenverbindungen durch die Milchdrüse abgegeben, so könnte sie im Verdauungscanale des Säuglings noch vor der Resorption ein Raub der Bacterien werden. Gelangt sie dagegen durch die Placenta in den Organissmus des Kindes, so ist sie demselben definitiv gesichert.

Dass diese grosse Eisenmenge, welche der mütterliche Organismus dem kindlichen abgiebt, während der relativ kurzen Zeit der Schwangerschaft aus der Nahrung der Mutter assimilirt werde, scheint mir nicht wahrscheinlich. Ich bin geneigt anzunehmen, dass die allmähliche Aufspeicherung eines Eisenvorrathes in irgend welchen Organen der Mutter für die spätere Frucht schon längere Zeit vor der ersten Conception beginnt. Es würde sich aus dieser Annahme erklären, warum die Chlorose vorzugsweise beim weiblichen Geschlecht auftritt und warum gerade zur Zeit der Pubertätsentwicklung. — Mit der Verfolgung dieser Fragen ist einer meiner Schüler beschäftigt.

---

[1]) Vergl. meine Abhandlnng «Ueb. d. Assimilation des Eisens», diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 49, 1884.

Analytische Methoden[1]) und Belege.

Um alle Aschenbestandtheile an ein und demselben Individuum bestimmen zu können, äscherte ich den neugeborenen Hund mit Baryt ein. Das 303,7 gr. schwere Thier wurde zerstückelt und mit einer Lösung von 10 gr. BaO, auf drei grosse Platinschalen vertheilt, auf dem Dampfbade digerirt, eingedampft und bei dunkler Rothgluth eingeäschert. Die noch kohlehaltige Asche wurde mit heissem Wasser extrahirt, das in heissem Wasser Ungelöste weiter geglüht bis zum völligen Verschwinden der Kohle, hierauf mit kalter Salpetersäure extrahirt und schliesslich das in kalter Salpetersäure Unlösliche mit heisser Salzsäure durch längeres Digeriren in der bedeckten Platinschale auf dem Dampfbade.

Das wässerige und salpetersaure Extract wurde vereinigt und auf 1 Liter verdünnt. Die salzsaure Lösung wird durch Filtration von dem ungelösten schwefelsauren Baryum getrennt und auf 100 cbcm. verdünnt.

100 cbcm. der vereinigten wässerigen und salpetersauren Lösung mit Silberlösung gefällt gaben 0,2293 AgCl = 0,05669 Cl; daraus berechnet auf 1 kgr. Körpergewicht 1,8667 gr. Cl.

300 cbcm. der vereinigten wässerigen und salpetersauren Lösung werden mit 30 cbcm. der salzsauren Lösung gemischt. Diese Mischung entspricht $^3/_{10}$ der gesammten Asche. Durch Zusatz verdünnter Schwefelsäure wird aus derselben der Baryt gefällt und abfiltrirt. Aus dem Filtrate fällt auf Zusatz von essigsaurem Ammon das Eisen als $FePO_4$ heraus, aus dem Filtrate hiervon mit oxalsaurem Ammon der Kalk, aus dem Filtrate davon durch Uebersättigen mit Ammoniak die Magnesia und aus dem Filtrate davon mit Magnesiamixtur der Rest der Phosphorsäure.

Die Menge des Eisenniederschlages betrug 0,0302 gr. $FePO_4$, entsprechend 0,0142 P_2O_5 und 0,0160 Fe_2O_3 = 0,0112 Fe.

---

[1]) Vergl. meine früheren Mittheilungen, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 10, S. 295, 1874, Liebig's Annalen, Bd. 172, S. 16, 1874, und Behaghel von Adlerskron, Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. 12, Heft 4, 1873.

Der gewogene Niederschlag wurde in Salzsäure gelöst und das Eisen durch Titration bestimmt. Es wurden gefunden: 0,0092 Fe. Mittel aus beiden Bestimmungen: 0,0102 Fe, im ganzen Thier 0,0340 Fe, auf 1 kgr. des Körpergewichtes 0,112 Fe = 0,160 Fe_2O_3.

Es wurden gefunden: 0,6015 CaO; daraus berechnet: 6,602 p. M. CaO. 0,1028 $Mg_2P_2O_7$ + 1,1307 $Mg_2P_2O_7$; daraus berechnet: 0,4067 p. M. MgO und 8,816 p. M. P_2O_5.

Zur Bestimmung der Alkalien wurde folgendermassen verfahren: 200 cbcm. der vereinigten wässerigen und salpetersauren und 20 cbcm. der salzsauren Lösung werden in einer Porzellanschale bis fast zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit Wasser aufgenommen, mit Barytlösung bis zur Bildung des Häutchens versetzt, auf dem Dampfbade erhitzt und heiss filtrirt durch einen mit Filz umgebenen und mit einem Uhrglase bedeckten Trichter. Das Filtrat wird in der Kälte mit kohlensaurem Ammon und Ammoniak gefällt und filtrirt. Das Filtrat hiervon wird in einem grossen Porzellantiegel eingedampft, die Ammoniaksalze werden abgeraucht, der Rückstand wird zur Vertreibung der Salpetersäure wiederholt mit Salzsäure und darauf mit Oxalsäure eingedampft, darauf in Wasser gelöst, in eine Platinschale übergeführt, eingedampft und geglüht, hierauf mit heissem Wasser aufgenommen, wobei sich etwas Magnesia abscheidet, und heiss filtrirt, das Filtrat mit Salzsäure übersättigt, in einer kleinen Platinschale eingedampft, geglüht und gewogen und die beiden Alkalien mit Platinchlorid getrennt. Es wurden erhalten: 0,5183 KCl + NaCl; daraus 0,8055 K_2PtCl_6; daraus berechnet: 2,555 p. M. K_2O und 2,380 p. M. Na_2O.

Der 3 Tage alte, 415,75 gr. schwere Hund aus demselben Wurfe wurde zum Zweck der Eisenbestimmung mit kohlensaurem Natron eingeäschert. Es wurden erhalten: 0,1153 $FePO_4$ = 0,04276 Fe; durch Titration: 0,0374 Fe; Mittel: 0,0401 Fe = 0,0964 p. M. Fe.

6 neugeborene Kaninchen, zusammen 206,72 gr. schwer, gaben 0,0691 $FePO_4$ = 0,0256 Fe; durch Titration: 0,0239 Fe; Mittel: 0,0247 Fe = 0,1195 p. M. Fe.

Eine junge Katze, 4 Tage alt, 161,98 gr. schwer, gab 0,0300 $FePO_4$ = 0,01113 Fe = 0,0687 p. M. Fe.

Die übrigen 3 oben angeführten Bestimmungen der Eisenmenge im jungen Thiere sind einer früheren Mittheilung[1] entnommen. Dort finden sich die genauen Zahlenbelege.

Bei der Analyse der Milchasche wurde genau nach der früher[2]) beschriebenen Methode verfahren:

70,219 gr. Milch gaben 0,3215 KCl + NaCl; daraus 0,6198 K_2PtCl_6; daraus berechnet: 1,701 p. M. K_2O und 0,9997 p. M. Na_2O.

56,218 gr. Milch gaben 0,4363 AgCl = 0,10787 Cl; daraus berechnet: 1,919 p. M. Cl.

324,31 gr. Milch gaben 0,0104 $FePO_4$ = 0,00489 P_2O_5 + 0,00551 Fe_2O_3; daraus berechnet: 0,003857 Fe; durch Titration: 0,00264 Fe; Mittel: 0,00325 Fe; daraus berechnet: 0,010 p. M. Fe = 0,014 p. M. Fe_2O_3.

Das Filtrat von dem Eisenniederschlage wird auf 1 Liter verdünnt.

250 cbcm. davon gaben 0,2508 CaO; daraus berechnet: 3,0934 p. M. CaO. 0,0394 $Mg_2P_2O_7$ + 0,4513 $Mg_2P_2O_7$; daraus berechnet: 0,175 p. M. MgO, und mit Berücksichtigung der Phosphorsäure im Eisenniederschlage: 3,886 p. M. P_2O_5.

Basel, den 3. Februar 1889.

---

[1]) Zeitschrift für Biologie, Bd. 10, S. 320, 322 u. 323, 1874.
[2]) Ebend., S. 296—300.

Untersuchungen über die schwarzen Farbstoffe der Choroidea und verwandte Pigmente.

Von

Eugen Hirschfeld, pract. Arzt.

(Der Redaction zugegangen am 16. Februar 1889.)

Untersuchungen über die von den früheren Forschern gemeinhin als Melanine bezeichneten schwarzen Farbstoffe sind bisher nur in sehr spärlichem Maasse ausgeführt worden. Einer der Ersten, welcher sich mit diesem Gegenstande beschäftigt hat, ist Scherer[1]), welcher das Pigment der Choroidea von Ochsenaugen zu isoliren versuchte und auch die Zusammensetzung seines Präparates elementar-analytisch bestimmt hat. Weiterhin sind dann noch vereinzelte Analysen des in den Lungen, bei Sectionen sich so häufig vorfindenden schwarzen Farbstoffes von C. Schmidt[2]), und des in den melanotischen Sarcomen und Carcinomen enthaltenen Pigmentes von Dressler[3]) und von Pribram[4]) ausgeführt worden. Besonders dieser letztere Gegenstand ist noch relativ am häufigsten Ausgangspunkt von Untersuchungen gewesen, einerseits wegen der Wichtigkeit, welche die nähere Erforschung dieser malignen Geschwülste für die practische Medicin hat, andererseits wohl auch wegen des, verhältnissmässig grosse Mengen von Farbstoff liefernden, Rohmateriales.

Die theoretischen Anschauungen über die chemische Individualität und die Herkunft dieser schwarzen Pigmente gingen bei dem Mangel an thatsächlichen, positiven Befunden vollständig auseinander, indem die Einen dieselben als Abkömm-

---

[1]) Ann. d. Pharm., Bd.40—63.

[2]) Gmelin, Handbuch der Organ. Chemie, Bd. VIII, 3, S. 2353.

[3]) Chem. Centr.-Blatt, 1866, S. 395.

[4]) Chem. Centr.-Blatt, 1866, S. 397.

linge des Blutfarbstoffes betrachtet wissen wollten, während die Anderen einen Zusammenhang dieser beiden hauptsächlichsten im thierischen Organismus auftretenden Pigmentarten entschieden in Abrede stellten. So sagt z. B. Lehmann[1]) in seinem Handbuch der physiologischen Chemie: «Dass das Melanin ein Umwandlungsproduct des Hämatins sei, dafür spricht ebensowohl sein Eisenreichthum, als die histiologisch (von Virchow und Kölliker) verfolgte Entwicklung jenes Stoffes in den Pigmentzellen.»

Dagegen wurde von der anderen Seite darauf hingewiesen, dass sich das Melanin auch da vorfände, wo überhaupt gar keine rothen Blutkörperchen vorhanden wären, oder die letzteren wenigstens sich noch nicht gebildet hätten. Demgemäss sagt Nencki[2]), gestützt auf seine Elementaranalysen: «Es besteht nicht die geringste chemische Beziehung zwischen dem Farbstoff der melanotischen Sarcome und dem Blutfarbstoff. Das Hämatin enthält Eisen, aber keinen Schwefel. Die Vorstellung, dass das melanotische Pigment durch Umbildung des Blutfarbstoffes entstehe, muss fallen gelassen werden.»

Auf diese vor einigen Jahren von Nencki[3]) und seinen Schülern J. Berdez[4]) und N. Sieber[5]) aufgenommenen und in mehreren Publicationen fortgesetzten Untersuchungen wollen wir noch späterhin, bei den Untersuchungen der einzelnen Farbstoffe, genauer zurückkommen. Ausser diesen Forschern haben noch K. A. H. Mörner[6]) und Miura[7]), der unter Salkowski arbeitete, ausschliesslich die Farbstoffe der melanotischen Tumoren studirt und eine Reihe von Körpern aus denselben dargestellt.

---

[1]) C. G. Lehmann, Handbuch der physiol. Chemie, S. 166.

[2]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XX, S. 357.

[3]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XX, S. 346—362, Bd. XXIV, S. 17—27.

[4]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XX, S. 346—362.

[5]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm, Bd. XX, S. 362—364.

[6]) Zeitschrift für phys. Chemie, Bd. XI, S. 66—142.

[7]) Virchow's Archiv, Bd. 107.

Wir selbst haben folgende Pigmente bearbeitet: 1. das Pigment der Choroidea von Rinderaugen; 1. den schwarzen Farbstoff der Lungen und Bronchialdrüsen; 3. das Pigment der schwarzen Rosshaare; 4. das Pigment der Walfischhaut.

Leider war es uns bisher nicht möglich, einen melanotischen Tumor zu erhalten, dessen Farbstoff wir ebenfalls noch — vorkommenden Falles — zu untersuchen beabsichtigen.

Farbstoff der Choroidea von Rinderaugen.

Wie schon oben erwähnt, war Scherer[1]) der Erste, welcher den Choroidealfarbstoff näher untersucht hat. Seine Darstellungsweise war im Wesentlichen die, dass er die Choroidea von den benachbarten Häuten frei präparirte und dann das Blut durch Waschen mit Wasser, die Gewebstheile durch Auspinseln des Melanins zu entfernen suchte. Der mit Wasser verrührte Farbstoff wird absetzen gelassen, decantirt und filtrirt, das auf diese Weise zurückbleibende Pigment durch Behandlung mit Alkohol und Aether von weiteren Verunreinigungen, besonders Cholesterin und Fetten, befreit. Das so erhaltene, in Wasser untersinkende und leicht zerreibliche Präparat ist unschmelzbar und geruchlos, von braunschwarzer Farbe; es liefert bei der Elementaranalyse folgende mittlere Zusammensensetzung, bei welcher die Asche = 9,8 % nicht mit berechnet ist:

C = 56,88,
H = 5,95,
N = 13,76,
O = 23,41.

Es ist klar, dass diese Darstellungsweise, die uns keine vollständige Entfernung der beigemengten Eiweisskörper garantirt, keinen chemischen reinen Körper liefern konnte, wie auch schon aus dem hohen Aschengehalt hervorgeht. Im Uebrigen ist der Sauerstoffgehalt, wie N. Sieber mit Recht hervorhebt, ohne Rücksicht auf etwa vorhandenen Schwefel berechnet worden.

---

[1]) Gmelin, Handbuch der Organ. Chemie, Bd. VIII, 3, S. 2353.

Schwarzenbach[1]) fand in dem Augenschwarz von Ziegen neben 7,94 % organischen Bestandtheilen 92,06 % eisenhaltige Asche.

Etwas näher ist dann die Natur dieses Farbstoffes von L. Gmelin[2]) studirt worden, welcher eine Reihe von Reactionen desselben zusammenstellte: «Löst sich langsam und unvollständig unter Ammoniakentwicklung in heisser wässriger Kalilauge mit rothbrauner Farbe; aus der Lösung fällt Salzsäure braune, in kalter Kalilauge lösliche Flocken. Ammoniak wirkt schwächer als Kali. Er ist unlöslich in Wasser, verdünnten Säuren, Alkohol, Aether, flüchtigen und fetten Oelen und Kalkwasser. Trocken destillirt liefert er ausser brenzlichen Nebenproducten kohlensaures Ammoniak, während in der Asche Kochsalz, Calciumphosphat und Eisenoxyd zurückbleiben.» Chlor soll ihn nur zum Theil entfärben; eine Angabe, welche sehr unwahrscheinlich klingt, da der oxydirenden Wirkung des Chlors ausser Kohle, welches, wenn in alkalischen Flüssigkeiten suspendirt, zur Verwechslung mit einer Farbstofflösung Veranlassung geben kann, keiner von allen bisher bekannten Farbstoffen Widerstand zu leisten im Stande ist. Concentrirte Salpetersäure und Schwefelsäure lösen den Farbstoff auf; aus beiden Lösungen kann er jedoch durch Verdünnen mit Wasser wieder ausgefällt werden.

Nur einen Theil der von Gmelin angegebenen Reactionen konnten wir bei unserem Pigmente bestätigt finden.

Neuerdings wurden diese Untersuchungen wiederum von N. Sieber[3]) aufgenommen, welche die Scherer'sche Darstellungsweise dahin modificirte, dass sie 2 Stunden lang mit 10procentiger Salzsäure kochte, durch welches Verfahren das in Lösung gegangene, peptonisirte Eiweiss durch Abfiltriren von dem ungelöst gebliebenen Farbstoffe getrennt werden konnte. Das so erhaltene Pigment ist unlöslich in den bekannten sonstigen Farbstofflösemitteln und löst sich nur wenig

[1]) Pharm. Viertelj., Bd. 11, S. 37.

[2]) Gmelin, Handbuch der Organ. Chemie, Bd. VIII, 3, S. 2353.

[3]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XX, S. 362—364.

in Alkalien und concentrirten Mineralsäuren; im Spectrum zeigt es keinen Absorptionsstreifen. Die Elementaranalyse des Präparates ergiebt;

C = 59,9 — 60,34,
H = 4,61 — 5,02,
N = 10,81.

Beide Analysen sind aschefrei berechnet. Die Asche betrug im ersten Falle 0,0076 gr., im zweiten 0,0053, und bestand hauptsächlich aus Kieselsäure.

Diese Angaben differiren schon bedeutend, besonders, was den Aschegehalt angeht, mit den Zahlen der früheren Forscher darüber.

Die Analyse von Schweinsaugen, ebenfalls von N. Sieber ausgeführt, ergab nicht erheblich, von diesen an Rinderaugen erhaltenen Resultaten, abweichende Zahlen. In beiden Präparaten konnte übrigens Schwefel nicht nachgewiesen werden; auch zeigten sie sonst qualitativ keine wesentlichen Unterschiede.

Die Untersuchung des Augenfarbstoffes sowohl, als die der übrigen Pigmente wurde zuerst mit der Absicht unternommen, die Zugehörigkeit dieser sogenannten Melanine zu gewissen Körpern, mit denen sie nicht blos in ihrem Aussehen, sondern auch in vielen ihrer Reactionen Aehnlichkeiten, ja sogar Identität zeigen, Körper, die erst kürzlich durch Hoppe-Seyler's Untersuchungen in ihren Eigenschaften und Reactionen näher beschrieben wurden, und deren Bildung aus im menschlichen Harn vorkommenden Substanzen von Udránszky nachgewiesen hat, einem näheren Studium zu unterwerfen. Die Darstellungsmethode, deren Gang durch Voruntersuchung von zuerst 6, dann 14 Rinderaugen vorher festgestellt worden war, war im Wesentlichen folgende:

140 Rinderaugen, welche aus dem Schlachthaus bezogen worden waren, wurden in der Weise verarbeitet, dass zuerst die dem Bulbus anhaftenden Weichtheile mit Messer und Scheere wegpräparirt wurden, da durch diese bluthaltigen Gewebe, insbesondere durch die Muskeln, leicht eine Verunreinigung unseres Farbstoffes mit Blut stattfinden kann, was

bei dem hohen Eisengehalt in der Asche bei früher analysirten Präparaten der Fall gewesen zu sein scheint, indem dort wenig Rücksicht auf die Entfernung des Blutes genommen wurde. Der so frei präparirte und gereinigte Augapfel wird durch einen verticalen Schnitt, ungefähr in der Mitte zwischen dem vorderen und hinteren Augenpol, eröffnet und der flüssige Inhalt sammt corpus vitreum und Linse durch Zusammendrücken des Bulbus aus der durch den Schnitt gemachten Oeffnung herausgepresst. Auf diese Weise lässt es sich am leichtesten vermeiden, dass von der pigmenthaltigen Aderhaut und Iris grössere Stücke beim Entfernen des Inhaltes mit losgerissen werden. Darauf wird der Verticalschnitt vollendet. und nach vollständiger Eröffnung des Augapfels die Netzhaut, welche sich übrigens leicht abheben lässt, vom Centrum nach der Peripherie zu abgelöst, da man, wenn in umgekehrter Richtung präparirend, Choroidea mitfasst. Die Aderhaut lässt sich jetzt ohne Mühe von den Schnitträndern her nach ihrer Befestigung an der Eintrittsstelle des Sehnerven zu in toto von der Sclera abheben. In ähnlicher Weise verfährt man an der vorderen Halbkugel.

Bekanntlich findet sich das schwarze Pigment im Auge in drei histiologisch von einander getrennten Schichten. Die äussere Schicht der Choroidea, die Lamina fusca oder Suprachoroidea, welche der Sclera aufliegt, bedeutend schwächer als die nach innen folgende, die Choroidea propria, ist von dieser durch ein Endothelhäutchen abgegrenzt. Beide Schichten enthalten zahlreiche mit Pigmentkörnchen erfüllte Zellen. Ausserdem findet sich, als Grenze gegen die Retina hin, obgleich entwicklungsgeschichtlich zu dieser gehörend, die der Choriocapillaris unmittelbar angrenzende, aus den bekannten polyedrischen, meist sechsseitigen, lediglich Pigment führenden Zellen bestehende Epithelschicht. Eine Trennung dieser verschiedenen farbstoffhaltigen Gewebslagen wurde erst gar nicht versucht, sondern die Choroidea, wie schon oben erwähnt, in toto abpräparirt. Der der Sclera anhaftende Farbstoff wurde durch leichtes Schaben mit dem Scalpell und durch Abspülen mit der Spritzflasche gesammelt und bei der späteren Ver-

arbeitung mit den übrigen Farbstoffmengen vereinigt. Ein Auspinseln des Farbstoffes, wie es N. Sieber gethan hat, wurde nicht vorgenommen, um den damit verbundenen Verlust an Material zu vermeiden, und andererseits, weil unsere spätere Darstellungsmethode die Entfernung etwa beigemengter Eiweisskörper oder anderer Verunreinigungen garantirte. Sehr angenehm ist die geringe Anwesenheit von Blut, da die Thiere, von welchen die Augen stammen, ja durch Verbluten getödtet zu werden pflegen, während das Gegentheil, wie es bei der Verarbeitung von menschlichen Lungen beispielsweise der Fall ist, nicht bloss hindernd in den Weg tritt, sondern da auch einen Verlust an Material bedingt, der bei den relativ geringen Mengen des reinen Präparates und dem grossen Umfang des Rohmaterials, die vorliegen, keine untersuchbaren Farbstoffmengen mehr liefert. Nichtsdestoweniger muss man hier bei den Augen durch mehrfaches Auswaschen mit Wasser das noch vorhandene Blut sorgfältig zu entfernen suchen. Zu diesem Zwecke werden die gesammelten farbstoffhaltigen Materialien, nachdem sie mit der Scheere zerkleinert wurden sind, in einem Becherglase mit einer reichlichen Menge von Wasser verrührt und damit stehen gelassen. Nach dem Absetzen wurde die darüber stehende klare Flüssigkeit abgegossen, und, was von Farbstoffpartikelchen sich etwa nicht abgesetzt hatte, oder beim Decantiren aufgerührt worden war, mit sammt der Flüssigkeit in einem besonderen Gefässe gesammelt. Dieses Auswässern des Farbstoffes wurde sehr häufig wiederholt und dazu immer grössere Mengen — mehrere Liter — Wasser angewendet. Auf diese Weise ist man wenigstens sicher, ohne besonders grossen Materialverlust, das beigemengte Blut vollständig entfernt zu haben. Das, was sich aus den gesammelten Waschflüssigkeiten noch abgesetzt hatte, wird mit dem ursprünglichen Niederschlage vereinigt und zusammen mit diesem einer Behandlung mit 96 procentigem Alkohol unterworfen. Auch hier wird in ähnlicher Weise verfahren, wie bei dem Waschen mit Wasser. Wenn es, wie es häufig vorkommt, die Flüssigkeit sich nicht leicht durch Decantiren von dem Niederschlage trennen lässt,

so thut man gut, durch einen Asbestpfropfen oder durch ein engmaschiges Drahtnetz hindurchzufiltriren. Ein Papierfilter anzuwenden, ist nicht empfehlenswerth, da der Farbstoff sich in den Poren des Filters festsetzt, und nicht blos dadurch ein Materialverlust entsteht, sondern auch leicht Papierfasern mit beigemengt werden, die sich dann ebenfalls beim Schmelzen mit Kali, wie der Farbstoff bei der späteren Verarbeitung mit umsetzen. Die gesammelten, ganz schwach gelblich gefärbten Alkoholmengen werden filtrirt und abdestillirt, wobei nach dem Abdestilliren in dem Kolben eine trübe, leicht gelblich gefärbte Flüssigkeit zurückbleibt. Es ist also in dem Alkohol so gut wie nichts von dem Farbstoff in Lösung gegangen. Der Niederschlag wird jetzt einer mehrfachen Extraction mit Aether unterzogen, wobei sich in demselben ebenfalls kaum etwas löst.

Auf die Behandlung mit Aether folgt die mit kalter 5procentiger Salzsäure. N. Sieber hat den Farbstoffbodensatz mit 10procentiger Salzsäure etwa zwei Stunden lang im Rückflusskühler gekocht, ein Verfahren, auf dessen bedenkliche Seiten schon Mörner aufmerksam gemacht hat, indem er meint, dass der Farbstoff durch 2stündiges Kochen mit einer so concentrirten Mineralsäure möglicher Weise Veränderungen erlitten haben könnte. Ausserdem können durch ein derartiges Verfahren aus den beigemengten Körpern, speciell den Eiweisskörpern, neue Farbstoffe gebildet werden. Ich habe wenigstens, als ich einmal bei einem Controllversuche weisse Haare blos mit 5procentiger Salzsäure auf dem Wasserbade erhitzte, constatiren können, dass die bisher weissen Haare nach einiger Zeit sich pfirsichroth gefärbt hatten. In Folge dessen habe ich es stets vorgezogen, die Salzsäure nicht in dieser starken Concentration und kalt anzuwenden, zumal die Eiweisskörper, zu deren Entfernung durch Peptonisation N. Sieber so verfährt, auch durch das spätere Verfahren eliminirt werden. Der Farbstoff giebt übrigens bei seiner Behandlung mit Salzsäure nur Spuren an dieselbe ab. Denn, wenn man die filtrirten Waschflüssigkeiten sammelt und abdampft, so hinterlassen dieselben trotz

ihrer ursprünglichen Menge nur einen ganz unbedeutenden, zur Analyse nicht hinreichenden, Bodensatz. Zur Entfernung der Salzsäure wurde der Niederschlag wiederum einer mehrmaligen Behandlung mit Wasser unterworfen, bis schliesslich die decantirte Flüssigkeit blaues Lacmuspapier nicht mehr roth färbte.

Nachdem schon durch die Vorversuche festgestellt worden war, dass der Farbstoff sich in Alkalien beim Erhitzen löste, wurden die gesammelten Farbstoffmengen in einen Kolben gebracht und mit einer genügenden Menge 2procentiger Kalilauge übergossen. Hierbei möchte ich nur kurz erwähnen, dass auch bei der weiteren Behandlung der Farbstoffe Kalium- und Natriumhydrat stets ohne Unterschied zur Anwendung gelangten. Schon in der Kälte löste sich ein ziemlich beträchtlicher Theil des schwarzen Farbstoffes, besonders, wenn man den Kolben mehrfach umschüttelte, indem sich die Flüssigkeit dunkelbraun färbte, während bei dem Erhitzen auf dem Wasserbade die Färbung alsbald eine viel intensivere wurde. Bei diesem Erhitzen auf dem Wasserbade lässt sich gleich am Anfange eine ziemlich beträchtliche Gasentwicklung constatiren. Wenn man die entweichenden Dämpfe durch ein darüber gehaltenes angefeuchtetes Curcumapapier prüft, so kann man beobachten, dass dasselbe sich binnen Kurzem intensiv braun färbt. Es handelt sich hier also um eine Entwicklung von Ammoniak, wie übrigens schon durch den Geruch zu erkennen war. Ob zugleich eine Bildung von organischen Basen — Methylamin, Trimethylamin etc. — beziehungsweise Austreibung derselben durch die Kalilauge vorgelegen hat, ist möglich, aber nicht festgestellt worden. Der Entscheid darüber wäre durch eine Platinanalyse der durch Destillation aufgefangenen Gase, die aber aus anderen Gründen unterblieben war, zu treffen gewesen. Schon nach zweistündigem Erhitzen auf dem Wasserbade ist der bei Weitem grösste Theil des Farbstoffes in die Kalilauge übergegangen. Der beim Filtriren der braunschwarzen Lösung auf dem Filter bleibende Rückstand löst sich ziemlich vollständig, bis auf einen geringen Bruchtheil, beim weiteren

Erhitzen mit Kalilauge von der oben angegebenen Concentration. Es differirt dieser Befund mit der Angabe von N. Sieber, welche den nach ihrer Methode ebenfalls aus Rinderaugen dargestellten und gereinigten Farbstoff sehr wenig löslich in Alkalien nennt. Denn, wenn selbst Spuren nach mehrstündigem Erhitzen mit 2procentiger Kalilauge ungelöst auf dem Filter zurückblieben, so lag das, meiner Meinung nach, weniger daran, dass der Farbstoff in der Alkalilauge unlöslich war, als vielmehr, dass hier, wo man es doch eigentlich noch mit dem Rohmateriale zu thun hatte, Verunreinigungen, welcher Natur dieselben gewesen sind, will ich dahingestellt sein lassen, noch vorgelegen haben, welche das in Lösung gehen des Pigmentes verhinderten, beziehungsweise erschwerten. Dafür spricht auch, dass der einmal in Kali gelöste Farbstoff und durch Salzsäure gefällt, sich nunmehr leichter in Kali löst als vorher. Im Uebrigen stimme ich darin mit N. Sieber überein, dass das bei 100° getrocknete Präparat bedeutend langsamer in Lösung geht, als die noch wasserhaltigen frisch gefällten Flocken.

Nachdem also der Farbstoff genügend lange mit Kalilauge auf dem Wasserbade erhitzt worden war, wurde erkalten gelassen, und dann durch ein Faltenfilter filtrirt. Die Filtration geht ziemlich leicht von statten. Das klare, in dünnen Schichten durchsichtige Filtrat wird jetzt mit Salzsäure bis zur deutlich sauren Reaction versetzt. Ein grosser Ueberschuss von Säure ist schon deshalb zu vermeiden, weil man ihn später zu lange auswaschen müsste. Sobald die Reaction der Flüssigkeit eine saure geworden ist, kann man beim Neigen des Becherglases erkennen, wie in der Flüssigkeit eine dichte Menge von braunschwarzen kleinen Flocken herumschwimmen. Sehr bald beginnt sie sich jedoch zu klären und die Flocken setzen sich in der Form eines sehr voluminösen Niederschlages auf dem Boden des Gefässes ab, während die darüber stehende Flüssigkeit mehr oder weniger gelb gefärbt ist. Je länger man den Niederschlag stehen lässt, um so mehr verdichtet er sich, so dass man nach einigen Tagen die ursprünglich scheinbar sehr grosse Menge des Farb-

stoffes, zu seiner Enttäuschung, auf einen ganz geringen Bruchtheil des ursprünglichen Volumens reducirt sieht. Die Flüssigkeit lässt sich leicht von dem Niederschlage durch Decantiren trennen. Sobald durch Abgiessen nichts mehr entfernt werden konnte, wurde filtrirt, wozu ein möglichst kleines anliegendes Filter verwendet werden muss. Man hat es sorgfältig zu vermeiden, dass der Niederschlag auf dem Filter antrocknet, weshalb man ihn am besten stets bedeckt hält. Sobald die Flüssigkeit durchgelaufen ist, wird der Niederschlag mit der Spritzflasche von oben herunter auf einen möglichst kleinen Raum zusammengespült und so lange mit destillirtem Wasser nachgewaschen, bis die abfliessende Flüssigkeit nicht blos nicht mehr sauer reagirte, sondern auch mit Silbernitrat keine erkennbare Trübung ergab. Für die spätere Verarbeitung durch das Zusammenschmelzen mit Kali ist es zwar gleichgültig, ob das Präparat noch Spuren von Chlorkalium oder Salzsäure enthält, indessen ist es, wenn man das Präparat vorher noch in anderen Richtungen untersuchen will, wichtig, das Pigment chlorfrei zu haben.

Das Filter wird dann herausgenommen, auf Fliesspapier getrocknet, und der Farbstoff mit einem Spatel in eine kleine Schale gebracht, indem man dabei sorgfältig vermeidet, Papierfasern mitzunehmen. Die Substanz wird nunmehr auf dem Wasserbade mehrere Stunden lang getrocknet, bis aus der zerfliesslichen schwarzen Masse ein zerreibliches dunkles Pulver geworden ist, das dann ein sehr kleines Volumen der ursprünglich feuchten Substanz darstellt. Der getrocknete Farbstoff wird in einem kleinen Becherglase oder einem Erlenmeyer-schen Kölbchen mit Alcohol übergossen und erwärmt, und die Extraction mit Alcohol mehrfach wiederholt. Derselbe lässt sich leicht von dem Pigmentniederschlage abgiessen. Nach der Alcoholbehandlung wurde der Farbstoff mehrere Male mit Aether ausgeschüttelt, und dies so lange fortgesetzt, bis der Aether sich nicht mehr färbte und beim Abdestilliren keinen Rückstand mehr hinterliess. Bei den übrigen schwarzen Farbstoffen, besonders bei den Harnen, ist jetzt noch eine ausgiebige Chloroformbehandlung nothwendig, um

den beigemengten Schwefel zu entfernen, was aber bei dem Augenfarbstoff nicht der Fall ist.

Nachdem die letzten Spuren Aether durch Verdunsten entfernt worden waren, zeigt unser Farbstoff folgende Eigenschaften und Reactionen:

Chemische Zusammensetzung. Schwarzes, wie Kohle glänzendes Pulver. Auf dem Platinblech erhitzt, entwickelt es Horngeruch, ist also stickstoffhaltig; es schmilzt nicht, und ändert sein Aussehen erst nach relativ sehr langer Einwirkung der Hitze, worauf es eine sehr geringfügige, gelblichweisse Asche — Kieselsäure — hinterlässt. Der Stickstoff wurde auch noch dadurch nachgewiesen, dass die Substanz mit Natrium zusammen im Reagensrohr geschmolzen, beim Auflösen im Wasser mit Ferri-Ferrochlorid und Salzsäure die Berlinerblau-Reaction gab. Dagegen konnte mit Soda und Salpeter geschmolzen, beim Auflösen der Schmelze in Chlorwasserstoffsäure, durch Baryumchlorid keine Trübung oder gar Niederschlag von Baryumsulfat hervorgebracht werden. Das Pigment enthält somit keinen Schwefel. Auch Eisen ist in demselben nicht vorhanden.

Verhalten gegen Lösungsmittel. In Wasser ist der Farbstoff unlöslich oder jedenfalls nur sehr schwer löslich; dagegen löslich in Kalilauge und Natronlauge sowohl, als auch in Aetzammoniak mit rothbrauner Farbe. Auch Wasser, das durch die eben genannten Agentien alkalisch gemacht worden ist, ist im Stande, das Pigment aufzulösen. Die alkalische Lösung des Farbstoffes zeigt bei der spectroscopischen Untersuchung keinen Absorptionsstreifen.

Was das Verhalten gegen Mineralsäuren anbetrifft, so löst er sich in concentrirter Schwefelsäure und ebenso in concentrirter Salpetersäure mit dunkelrother Farbe.

Beim Erhitzen mit concentrirter Schwefelsäure wird die Substanz verkohlt. Wenn man die filtrirte Lösung des Farbstoffes in concentrirter Salpetersäure in ein mehrfaches Volumen Wasser einträgt, so entsteht alsbald eine Trübung der röthlichgelb gefärbten Flüssigkeit und nach einigem Stehen

setzen sich auf dem Boden des Gefässes braunrothe Flocken ab. Es wird decantirt, dann filtrirt und der auf dem Filter gesammelte Niederschlag mit Wasser nachgewaschen. Der Niederschlag wird mit sammt dem Filter — bei der geringen Menge des erhaltenen reinen Präparates und bei der Umständlichkeit und Schwierigkeit der Darstellung konnten natürlich nur ganz geringe Proben unseres gereinigten Pigmentes zu diesen Reactionen verwendet werden — in einer Schale auf dem Wasserbade erst mit 96procentigem Alcohol, der sich aber nicht merklich färbte, übergossen. Nach dem Verdunsten des Alcohols wurde mit Aether extrahirt; auch hierin löste sich nichts, ebenso wenig wie bei dem nun folgenden Erwärmen mit Eisessig. Dagegen färbte sich, nachdem die Essigsäure durch Verdampfen verjagt worden war, bei Behandlung mit Kalilauge dieselbe sofort braunroth. Es verhält sich demnach der aus der Salpetersäurelösung durch Verdünnen mit Wasser erhaltene Niederschlag in diesen Reactionen gleich dem ursprünglichen Farbstoff, dem er übrigens in seinem macroscopischen Aussehen nicht so ganz gleicht. Ob eine Veränderung stattgefunden hat oder nicht, müssen weitere Untersuchungen, die mit grössen Materialmengen arbeiten, entscheiden. Verdünnte Säuren sind nicht im Stande, den Farbstoff aufzunehmen, auch nicht beim Erhitzen. Ich will hier nur kurz hervorheben, dass bei dieser Schilderung der Eigenschaften des Pigmentes immer von dem nach obiger Methode gereinigten und getrockneten Präparat die Rede ist, dessen Feuchtigkeitsgehalt durch mehrstündiges Erhitzen auf dem Wasserbade vertrieben worden ist. Wenn man die alkalische Lösung des Farbstoffes mit Salzsäure fällt, so ist das Filtrat immer mehr oder weniger gelb gefärbt; und die Färbung wird um so intensiver, je mehr sich nach dem Auswaschen der Säure die Reaction der neutralen nähert. Hieraus geht hervor, dass das frischgefällte Pigment sowohl in Wasser als auch in verdünnten Säuren in geringem Grade löslich ist. Ebenso nehmen auch andererseits Alkalien, wie auch schon oben erwähnt worden ist, das Pigment viel leichter auf, wenn es aus der alkalischen

Lösung durch Salzsäure niedergeschlagen worden ist, als den getrockneten pulverisirten Farbstoff.

Beim Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure wird aus unserem Pigmente kein, Kupferoxyd reducirender, Körper abgespalten.

Von den organischen Lösungsmitteln, mit denen wir das Präparat zusammenbrachten, ist keines im Stande gewesen, dasselbe aufzunehmen. Es ist unlöslich, sowohl in der Wärme als in der Kälte, in Eisessig, Alcohol (in verschiedenen Concentrationen angewendet), Aethyläther, Petroleumäther, Chloroform, Schwefelkohlenstoff und Benzol.

Sehr interessant ist das Verhalten gegen Alcohol in wässriger alkalischer Lösung, das erst kurz vor der Veröffentlichung dieser Arbeit beobachtet worden ist, da es sonst möglicher Weise bei der Darstellung Verwendung gefunden hätte. Versetzt man nämlich eine filtrirte wässrige alkalische Lösung des Farbstoffes mit einem mehrfachen Volumen Alcohol, so trübt sie sich alsbald und setzt den Farbstoff in zähen braunrothen Flocken ab. War die ursprüngliche Lösung zu sehr verdünnt, so findet anfangs nur eine Trübung statt; erst nach längerem Stehen, noch besser beim Erhitzen, scheiden sich die Flocken deutlich aus und setzen sich ab, während die Flüssigkeit klar wird.

Verhalten gegen Oxydations- und Reductionsmittel. Das Verhalten gegen Salpetersäure ist schon vorhin geschildert worden.

a) Chlor. Wenn man Chlor in die wässrige alkalische Lösung einleitet, so findet binnen Kurzem eine Entfärbung der anfangs undurchsichtigen tintenähnlichen Flüssigkeit statt, ein Process, der bedeutend[1]) schneller vor sich geht, wenn man bei Tage operirt, als bei künstlicher Beleuchtung. Wenn so viel Chlor in die leicht gelbliche Flüssigkeit eingeleitet worden ist, dass dieselbe sauer reagirt, und getrübt ist, versetzt man sie mit Natronlauge im Ueberschuss, worauf eine Aufhellung

---

[1]) In einem Falle beobachtet.

stattfindet. Es wird filtrirt, und das alkalische Filtrat mit Salzsäure übersättigt. Es fallen weisse Flocken aus, welche sich bald niederschlagen. Es ist also der Farbstoff in der Weise vom Chlor angegriffen worden, dass das Product zwar wie früher in Alkalien löslich ist und durch Salszsäure in den charakteristischen Flocken wieder ausfällt, aber während die Flocken früher rothbraun gefärbt waren, sind sie jetzt weiss. Bringt man nun die saure Flüssigkeit mit sammt den Flocken in eine kleine Schale, und erhitzt auf dem Wasserbade, so färben sich die letzteren wieder dunkler und nehmen ihre ursprüngliche rothbraune Farbe wieder an, indessen hat ihre Menge gegen früher bedeutend abgenommen. Demgemäss ist auch die Lösung, wenn man mit Natronlauge übersättigt, nicht so intensiv gefärbt, wie die Versuchslösung, von der wir ausgegangen sind. Es ist dies letztere eine Eigenschaft, die unser Farbstoff auch mit anderen Farbstoffen theilt. Wenn man in Blut oder Harn Chlor einleitet, und die entfärbte Flüssigkeit hernach erwärmt, so färbt sie sich wiederum.

b) Wasserstoffsuperoxyd. Fügt man zu der alkalischen Lösung Wasserstoffsuperoxyd hinzu, so findet eine Ausfällung in den bekannten rothbraunen Flocken statt. Dieselbe rührt nicht etwa davon her, dass das Wasserstoffsuperoxyd überschüssige Säure enthält, denn die Reaction ist trotz des Niederschlages alkalisch geblieben. Auch kommt die Ausfällung nicht dadurch zu Stande, dass im Wasserstoffhyperoxyd enthaltene Partikelchen den Farbstoff mechanisch mit niederreissen. Denn filtrirt man auch die erstere vor dem Versuche, so kommt nichtsdestoweniger die Reaction in derselben Weise zu Stande wie vorher.

Das Merkwürdige hierbei ist, dass hier anscheinend keine Oxydation stattgefunden hat, die doch besonders gern in alkalischer Lösung durch jenes Agens bewirkt zu werden pflegt. Wenigstens war eine Entfärbung der Flocken trotz Erhitzen und längerem Stehenlassen — mehrere Tage — nicht zu beobachten.

c) Reduction mit Natriumamalgam. Man bringt den Farbstoff mit Natriumamalgam zusammen, und erhitzt

längere Zeit auf dem Wasserbade in einem Kolben in der Weise, dass die sich leicht bildende alkalische Farbstofflösung stets von einer Wasserstoffatmosphäre umgeben ist — der Kolben ist mit einem durchbohrten Kautschuckstopfen versehen, in welchem eine Glasröhre steckt, die nach aussen zu in eine lang ausgezogene feine Spitze ausläuft, durch welche der nascirende Wasserstoff zuerst die Luft aus dem Kolben treibt, und dann selbst entweicht —, so kann man nach einiger Zeit eine Entfärbung der Lösung constatiren, die um so deutlicher sich ausspricht, je länger man mit der Erhitzung fortfährt. Es wird die nahezu ganz farblos gewordene Lösung filtrirt. Die Filtration geht sehr langsam von statten. In dem Filtrate fallen bei Uebersättigen mit Salzsäure leicht gefärbte Flocken aus. Sowohl diese Flocken als die klare darüber stehende Flüssigkeit färben sich bei längerem Stehen an der Luft wieder dunkler, scheinen sich also lediglich durch den Sauerstoff der Luft wieder zu oxydiren.

Die Menge des aus 140 Rinderaugen gewonnenen, gereinigten und getrockneten Farbstoffes betrug, nach Abrechnung aller Materialverluste, noch 3,9 gr. Diese Substanz wurde behufs Studium ihrer weiteren Zersetzungsproducte mit Aetzkali geschmolzen. Zu diesem Zwecke wurde der pulverisirte Farbstoff in eine Retorte gebracht, und dann die 5—6fache Menge Aetzkali — circa 20 gr. — hinzugefügt. Bei der vorgängigen Untersuchung erwies sich das durch Alcohol gereinigte Kali causticum als frei von Salpetersäure und salpetriger Säure. Die Mischung wurde mit etwa 30 cbcm. Wasser angefeuchtet, indem zugleich mit der Spritzflasche an der Wand der Retorte hängen gebliebene Farbstoffpartikelchen heruntergespült wurden, damit sie der Schmelze nicht entgingen. Die Retorte ist mit einem gut eingeschliffenen Glasstöpsel versehen und befindet sich zusammen mit einem Thermometer in einem Oelbade, in das sie mindestens so tief eintaucht, als die zu schmelzende Masse in ihrem Inneren hoch steht, jedoch ohne dabei den Boden des Oelbades zu berühren. Auf diese Weise kann eine genaue Regulirung der Temperatur stattfinden. Der

ausgezogene Hals der Retorte mündet nach vorne in einen Kühler, in dessen Abflussrohr er hineingesteckt wird. Durch einen über beide gezogenen Kautschuckschlauch, der also nicht direct mit den abdestillirenden Gasen in Berührung tritt, wird die Verbindung vollends dicht gemacht.

Nun wird das Oelbad langsam erwärmt. Bis die Temperatur auf gegen 150° gestiegen ist, lässt sich keine merkbare Einwirkung der Erhitzung auf die in der Retorte befindliche Masse beobachten. Erst bei 155—160° beginnt dieselbe unter starkem Aufschäumen in Fluss zu gerathen. Jetzt muss man mit der weiteren Erwärmung sehr vorsichtig vorgehen, zumal, wenn sich etwas zu viel Wasser in der Retorte befindet, da die überschäumende Masse leicht durch den Kühler in die Vorlage getrieben wird, und eine Herausnahme der Retorte aus dem erhitzten Oelbade, um jenes zu verhindern, in Folge ihrer Verbindung mit dem Kühler nur schwer sich bewerkstelligen lässt. Nachdem man also eine Zeit lang die Temperatur auf 160° gehalten hat, bis der grösste Theil des Wassers überdestillirt ist, kann man allmälig höher gehen. Die Grenze, bis zu welcher die Erwärmung der Schmelze fortgesetzt wurde, war 250°, über welche niemals hinausgegangen wurde. Sobald die schwarze Masse im Inneren der Retorte nicht mehr aufschäumte, und keine Blasen mehr trieb, sondern sich klärte, wurde die Schmelze als beendigt angesehen, die Verbindung mit dem Kühler gelöst, und die Retorte, zur Abkühlung des Schmelzrückstandes, aus dem Oelbade in die Höhe geschraubt. Die ganze Reaction pflegt in der Regel 2½—3 Stunden in Anspruch zu nehmen, je nach der Menge Wasser, welche am Anfange hinzugesetzt worden war.

A. Untersuchnng des Destillates.

Die in der Vorlage aufgefangene alkalisch reagirende Flüssigkeit wurde, auch wenn aus der Retorte keine Substanz durch Ueberschäumen hinübergerissen worden war, nochmals auf freiem Feuer abdestillirt, nachdem vorher das Rohr des Kühlers sorgfältig gereinigt und mit destillirtem Wasser durchgespült worden war. Das Destillat gab mit

Salpetersäure, welche salpetrige Säure enthielt, die von der Bildung von Nitrosoindolnitrat herrührende Rothfärbung. Bei der zweiten Destillation wurden die übergehenden Gas- und Flüssigkeitsmengen in einer mit verdünnter Salzsäure gefüllten Vorlage aufgefangen. Die salzsaure farblose Lösung wird in einer Schale auf dem Wasserbade eingedampft. Alsbald nach dem Erwärmen färbt sich die Flüssigkeit roth. Nachdem bis zur Trockene eingedampft und die Salzsäure vertrieben worden war, liess sich deutlich ein ganz charakteristisch jasminartiger Geruch wahrnehmen. Die trockene Masse wurde mit wenig Wasser in der Schale übergossen, wobei sie sich leicht löste. Die Lösung wurde filtrirt und das klare Filtrat mit Platinchlorid versetzt. Ein relativ reichlicher, gelb gefärbter Niederschlag entstand, welcher sich nach 24stündigem Stehen auf dem Boden des Becherglases gut absetzte. Hierauf wurde filtrirt und der Filterrückstand sorgfältig mit Wasser nachgewaschen, und dann — er liess sich leicht vom Filter herunternehmen — bei 100—105° so lange getrocknet, bis er ein constantes Gewicht angenommen hatte:

0,3594 gr. des getrockneten Platindoppelsalzes ergeben 0,1579 gr. des 0,1579 gr. Platin. Dies entspricht:

43,93 % Platin.

Ammoniak verlangt für seine Platindoppelverbindung $(NH_4)_2Cl_2PtCl_4$ einen Procentgehalt von 44,13 Platin. Es handelt sich hier also ausschliesslich um Ammoniak.

Die von dem Platinammoniumniederschlage abfiltrirte Lösung wurde mit sammt den gesammelten Waschwässern wiederum in der Schale zur Trockene eingedampft, und die zurückbleibende Substanz in Alcohol gelöst, die alcoholische Lösung abfiltrirt, und das Filtrat mit alcoholischer Platinchloridlösung gefällt. Es entsteht ein nicht ganz so starker Niederschlag, wie bei der vorhergehenden Fällung. Der auf dem Filter gesammelte und mit Alcohol nachgewaschene Niederschlag wird getrocknet und analysirt:

0,1983 gr. des getrockneten Platindoppelsalzes geben geglüht 0,08345 gr. Platin. Dies entspricht:

42,18 % Platin.

Es ist aus dieser Zusammensetzung des Doppelsalzes ersichtlich, dass in dem Destillate neben sehr viel Ammoniak nur ein kleiner Theil von Aminbasen enthalten sind. Denn die dem Ammoniak, in Bezug auf den Platingehalt, am nächsten stehende Base ist Methylamin. Dieses verlangt aber bereits einen Procentgehalt von 41,52 Pt, entsprechend der Formel $(NCH_3)_2Cl_2PtCl_4$.

Worauf die Rothfärbung übrigens beim Eindampfen der salzsauren Lösung zurückzuführen ist, und jener, oben erwähnte, jasminartige Geruch, habe ich nicht ermitteln können.

B. Schmelzrückstand.

Nachdem der Schmelzrückstand erkaltet war, wurde derselbe, ohne lange der Luft ausgesetzt zu sein, mit einer vorher abgemessenen Menge verdünnter Schwefelsäure übersättigt. Sofort entwickelten sich dichte Dämpfe und zugleich ein ganz widerlicher penetranter Geruch, wie ihn die höheren Fettsäuren verbreiten. Nach dem Erkalten der Mischung wurde dieselbe in eine Schale ausgegossen, und durch Nachspülen und Umschütteln mit destillirtem Wasser die noch an der Retortenwandung festhaftenden Massen vollends entfernt. Die gehörig mit einander verrührte Mischung wurde filtrirt. Das klare Filtrat war ziemlich dunkel gefärbt; es war also in die verdünnte Schwefelsäure etwas Farbstoff in Lösung gegangen. Welcher Natur derselbe war, konnte wegen seiner geringen Menge nicht weiter untersucht werden, sondern es wurde vielmehr die Flüssigkeit bis auf etwa den dritten Theil ihres ursprünglichen Volumens abdestillirt. Das sauer reagirende Destillat sollte weiter mit Baryumhydrat auf Fettsäuren verarbeitet werden; es ist diese Untersuchung aber durch Platzen des Kolbens verunglückt. Indessen lässt schon die gefundene Oxalsäure schliessen, dass flüchtige Säuren übergegangen waren.

Die im Destillationskolben zurückgebliebene Flüssigkeit wird, nach dem Erkalten, im Scheidetrichter mit grossen Mengen Aether wiederholt ausgeschüttelt, die gesammelten Aethermengen filtrirt und bis auf einige Tropfen abdestillirt.

Der Kolben wird dann mit einer geringen Menge Wasser ausgespült, das Spülwasser filtrirt, das Filtrat mit Natriumcarbonat alkalisch gemacht, und von Neuem mit Aether ausgeschüttelt. Nach dem Abdestilliren des Aethers wird der Rückstand in Wasser aufgenommen, und eine Probe davon im Reagensrohr mit wenig Eisenchlorid versetzt. Es entsteht eine, ganz schwach ausgeprägte, schmutzige Grünfärbung, welche aber sofort verschwindet. Es ist also so gut wie kein Brenzcatechin vorhanden. Nun wurde weiter auf Protocatechusäure untersucht, welche, wenn vorhanden, in der durch Soda alkalisch gemachten wässrigen Lösung zurückgeblieben sein musste. Zu diesem Zwecke wurde dieselbe mit Essigsäure übersättigt, und rasch mit Aether ausgeschüttelt, in welchen die, durch die Essigsäure freigemachte, Protocatechusäure nunmehr übergehen muss. Nach dem Abdestilliren des Aethers wird der Rückstand ebenfalls mit Wasser aufgenommen, das Wasser, zur Verjagung der noch restirenden Essigsäure auf dem Wasserbade in einer kleinen Schale abgedampft, nochmals mit Wasser erschöpft, und ein Theil der filtrirten, wässrigen Lösung mit einem Tropfen Eisenchlorid versetzt. Auch hier erhielt man das gleiche Resultat wie vorhin, eine rasch vorübergehende, grünliche Färbung. Es ist also auch keine Protocatechusäure bei dem Zusammenschmelzen des Farbstoffes mit Aetzkali gebildet worden. Dagegen konnten relativ reichliche Mengen von Oxalsäure durch die Ausfällung des in Ammoniak unlöslichen oxalsauren Calcium nachgewiesen werden. Es ist das Auftreten der Oxalsäure zugleich ein Beweis dafür, dass das Misslingen der oben angeführten Reactionen nicht etwa auf eine ungenügende Extraction des ursprünglichen Filtrates mit Aether zurückzuführen ist, da doch die Oxalsäure nur relativ schwer in den Aether übergeht.

Der Filterrückstand von dem mit Schwefelsäure behandelten Schmelzproducte wird mit Wasser sorgfältig nachgewaschen, um die gebildeten, in Wasser löslichen, niederen Fettsäuren zu entfernen und dann, behufs weiterer Reinigung

auf dem Filter in Wasser, welches durch eine geringe Menge Natronlauge alkalisch gemacht worden war, nochmals gelöst. Es löste sich der gesammte, auf dem Filter befindliche Niederschlag darin auf, während eine intensiv dunkel gefärbte Flüssigkeit durchläuft. Diese concentrirte Lösung wird mit Salzsäure übersättigt, worauf der Farbstoff sich wieder in den bekannten rothbraunen Flocken, wie vor dem Schmelzen, ausscheidet. Es wurde absetzen gelassen, decantirt, filtrirt, dann so lange mit destillirtem Wasser nachgewaschen, bis im Filtrate keine Trübung mehr mit Silbernitrat erzeugt werden konnte. Um zu diesem Punkte zu gelangen, muss man allerdings mehrere Tage nachwaschen, während welcher Zeit, um das Eintrocknen zu verhüten, der Trichter mit einer Glasplatte zugedeckt bleibt. Wenn man nach Entfernung aller Salzsäure und Salze — Kalium- und Natrium-Sulfat und -Chlorid — etwas von den auf dem Filter befindlichen, noch feuchten Flocken entnimmt, und in Alcohol von den verschiedensten Concentrationen zu lösen versucht, so findet man, dass derselbe auch beim Erhitzen sich nur wenig färbt, sondern die Farbstoffpartikelchen sich vielmehr auf dem Boden des Gefässes ansammeln. Der Farbstoff der Choroidea ist also auch nach dem Zusammenschmelzen mit Aetzkali in Alcohol unlöslich.

Nunmehr wird der Niederschlag sorgfältig vom Filter entfernt und in einer Schale auf dem Wasserbade durch mehrstündiges Erhitzen getrocknet. Nach einer genügenden Behandlung mit Alcohol und Aether wird die Substanz im Luftbade bei 100—105° bis zum constanten Gewicht getrocknet und gewogen. Das Gewicht des gereinigten Präparates beträgt 1,2225 gr., also immer noch, trotz aller Materialverluste, circa 30 % der auf dem Wasserbade getrockneten Substanz vor der Schmelze. Dasselbe liefert bei der Elementaranalyse, im offenen Rohre, mit Kupferoxyd verbrannt, folgende Zahlen:

I. 0,1178 Substanz ergiebt 0,001 gr. Asche, 0,2824 CO_2 und 0,04518 H_2O.
Substanz = 0,1168 aschefrei.
C = 65,94 %,
H = 4,298 %.

II. Substanz = 0,113 ergiebt 0,001 Asche und 0,0415 H_2O. Die CO_2-Bestimmung ist verloren gegangen.

Substanz = 0,112 aschefrei,
C = nicht bestimmt,
H = 4,117 %.

III. Substanz = 0,1423 ergiebt 0,0012 Asche, 0,3399 CO_2 und 0,0542 H_2O.

Substanz = 0,1411 aschefrei,
C = 65,69 %,
H = 3,84 %.

Das Platinschiffchen mit der Substanz muss zur Analyse in einem kleinen Glasrohr gewogen werden, da der Farbstoff sonst während der Wägung, dadurch, dass er Wasser aus der Luft anzieht, an Gewicht merklich zunimmt. Bei der Verbrennung dauert es verhältnissmässig lange, bis eine Aenderung im Aussehen der Substanz zu beobachten ist, ein schon vor dem Schmelzen beobachtetes Verhalten.

Die Asche betrug bei diesen drei Analysen zusammen im Ganzen 0,0032 gr. Dieselbe wurde gesammelt und analysirt. Dabei stellt sich heraus, dass sie aus Siliciumdioxyd besteht. Sie hat also mit dem Körper selbst nichts zu thun, sondern stammt aus dem Glase der Retorte, weshalb wir auch ihren Procentgehalt nicht erst angegeben haben. Die Untersuchung auf Eisen, auf Calcium und Magnesium ergab ein negatives Resultat. Der Farbstoff selbst also ist aschefrei.

Wenn wir die Eigenschaften dieses Körpers, von der oben angegebenenen Zusammensetzung, mit denen des Farbstoffes vor dem Schmelzen zusammenhalten, so zeigt sich, dass der durch Säure aus der Lösung der Schmelze abgeschiedene und in der angegebenen Weise gereinigte Körper in der braunen Färbung und in dem Verhalten gegen Lösungs- und Oxydations-Mittel keine bemerkbaren Unterschiede von dem Farbstoffe, aus dem er durch Zusammenschmelzen mit Aetzkali dargestellt worden ist, aufweist. Indessen die Zusammensetzung hat eine sehr wesentliche Aenderung erfahren, indem der Stickstoffgehalt vollkommen entfernt ist; zum grössten Theile als Ammoniak, wie die Platinbestimmung de-

Doppelsalzes bewiesen hat, zum kleinen Theile als Indol, und vielleicht noch andere flüchtige Stickstoffverbindungen, auf welche, wegen ihrer geringen Menge, keine Untersuchung gerichtet werden konnte.

Dieser braune Körper also, welcher mit der Lassaigneschen Reaction keine Blaufärbung mehr zeigt, ist, wie früher, unlöslich, beziehungsweise nur sehr schwer löslich in Alcohol, Aethyläther, Petroleumäther und verdünnten Säuren. Dagegen löst er sich in verdünnter Natronlauge, Kalilauge, Aetzammoniak, oder in einer Lösung von Natriumcarbonat. Aus allen drei Lösungen kann er, entsprechend seinem früheren Verhalten, durch Uebersättigen mit Salzsäure, durch Alcohol und durch Wasserstoffsuperoxyd in rothbraunen Flocken ausgefällt werden. Er ist ferner löslich in concentrirter Salpetersäure, aus der, durch Verdünnen mit Wasser, ein in Alkalien löslicher, und aus der alkalischen Lösung durch Säure wieder ausfällbarer, aus zarten, rothbraunen Flocken bestehender Körper niedergeschlagen wird. Er ist unlöslich sowohl in Eisessig, als in verdünnter Essigsäure.

Beim Einleiten von Chlor in die alkalische Lösung findet binnen Kurzem eine Entfärbung statt, erwärmt man die wieder alkalisch gemachte, filtrirte Lösung, so treten wieder rothbraune Flocken auf beim Ansäuern, welche sich sofort in Natronlauge lösen.

Wenn wir, nach all den genannten Eigenschaften, den Körper näher charakterisiren sollen, so können wir sagen, dass in dem Pigment der Choroidea ein Körper enthalten ist von schwarzbrauner Farbe, dessen Reingewinnung resp. Abtrennung von Eiweissstoffen und Zellenresten durch verdünnte, kalte Salzsäure nicht gelingt, der in 2procentiger Alkalilauge in der Wärme allmälig gelöst wird, indem reichlich Ammoniak entweicht, von dem es vorläufig unentschieden bleiben muss, ob es allein aus den Verunreinigungen oder zugleich aus dem Farbstoff gebildet wird. Einmal in verdünnten Alkalien gelöst, ist der Farbstoff durch Säure leicht abscheidbar und leicht in Alkali wieder löslich, bildet nach dem Trocknen ein schwarzes, wie Kohle glänzendes Pulver, ist stickstoffhaltig,

nicht schmelzbar und zeigt die weiteren, oben angegebenen Reactionen.

Durch Zusammenschmelzen mit Aetzkali und Erhitzen der Schmelze bis 250° wird der ganze noch vorhandene Stickstoffgehalt, hauptsächlich als Ammoniak entfernt, und neben etwas Oxalsäure (wahrscheinlich noch flüchtigen fetten Säuren, auf welche nicht bis zu Ende untersucht worden ist) wird eine braun gefärbte amorphe Säure erhalten, welche in ihren Eigenschaften von dem, nicht mit Kali geschmolzenen, Farbstoff nicht wesentlich abweicht, von der mittleren procentischen Zusammensetzung:

C = 65,82,
H = 4,13,
O = 30,05.

Die Verbindungen der Säure mit Alkalien werden durch Kohlensäure nicht zerlegt.

Ob das Pigment der Choroidea den Huminsubstanzen zugehört, ist durch die Untersuchungen nicht endgültig entschieden.

Denn, wenn auf der einen Seite die Aehnlichkeit des äusseren Aussehens, das gleiche Verhalten gegen sämmtliche übrigen Agentien, ja sogar die Uebereinstimmung der elementaren Zusammensetzung[1]) hervorgehoben werden muss, so darf doch andererseits auch nicht unerwähnt bleiben, dass es in zwei wichtigen Eigenschaften von diesen differirt. Es liefert nämlich, beim Schmelzen mit Kali, nicht, wie die Huminsäuren, Protocatechusäure und Brenzcatechin, und es weicht fernerhin sein Schmelzproduct von den Hymatomelansäuren darin ab, dass es, frisch gefällt, nicht in Alcohol löslich ist.

Auch das Verhalten des Calcium- und des Baryumsalzes, mit dessen Untersuchung wir gegenwärtig noch beschäftigt sind, scheint mit den von Hoppe-Seyler für die Hymatomelansäuren ermittelten Thatsachen nicht im Einklang zu stehen.

---

[1]) Zeitschrift für phys. Chemie, Bd. XIII, S. 111, 113, 114.

Näheren Aufschluss über die Zusammensetzung wird hoffentlich die Untersuchung der anderen, oben erwähnten, Farbstoffe noch ergeben.

Diese Untersuchungen sind von November 1887 bis Ostern 1889 mit kurzer Unterbrechung in dem physiologisch-chemischen Laboratorium der Universität Strassburg ausgeführt worden.

Beiträge zur Kenntniss des Adenins, Guanins und ihrer Derivate.

Von

S. Schindler.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)
(Der Redaction zugegangen am 20. Februar 1889.)

Durch die Auffindung des Adenins sind die bisher ausgeführten Untersuchungen über das Vorkommen der stickstoffreichen Basen, die aus dem Nucleïn hervorgehen, einer Revision bedürftig geworden. Es ist zunächst die Nothwendigkeit fühlbar geworden, eine Methode zur quantitativen Bestimmung dieser Substanzen in den thierischen Geweben zu besitzen.

Ich habe auf Veranlassung des Herrn Prof. Kossel eine solche Methode ausgearbeitet und mit Hülfe derselben in einigen Geweben Analysen ausgeführt. An diese Untersuchungen habe ich Experimente angeschlossen, welche über die Zersetzung des Adenins und Guanins durch Fäulniss und durch physiologische Processe Aufschluss ertheilen sollten.

I. Ueber die quantitative Trennung von Adenin, Hypoxanthin, Guanin und Xanthin.

Das Adenin ist bei den früheren Untersuchungen zum Theil als Hypoxanthin, zum Theil als Guanin bestimmt worden.

Ich legte dem von mir angewandten Verfahren die bekannte, stets angewandte Methode der Fällung als Silberverbindung zu Grunde. Die von mir benutzte Modification des alten Verfahrens bezweckt erstens eine vollständige Trennung von Guanin und Adenin und zweitens eine Bestimmung des Adenins neben dem Hypoxanthin.

A. Trennung von Adenin und Guanin.

Den ersteren Zweck erreichte ich durch die Behandlung mit warmer wäseriger Ammoniakflüssigkeit, welche bereits von Kossel zur Trennung des Adenins und Guanins empfohlen wurde (Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. X, S. 254). Zu den folgenden Versuchen benützte ich völlig reines Guanin, dessen Stickstoffgehalt durch eine Analyse als richtig erkannt war.

0,2480 Guanin bei 110° getrocknet wurde in salzsäurehaltigem Wasser gelöst und auf dem Wasserbade in einer Glasschale mit Ammoniak digerirt. Darauf wurde die Flüssigkeit mit dem ausgefallenen Guanin durch ein bei 110° getrocknetes und gewogenes Filter filtrirt. Ich erhielt zurück 0,2472 Guanin (bei 110° getrocknet). Aus diesem Versuch folgt, dass das Guanin bei Wasserbadtemperatur in wässerigem Ammoniak so gut wie unlöslich ist. Nach Zusatz von Adenin wurde bei einem zweiten Versuch dasselbe Resultat erhalten.

B. Trennung von Adenin, Guanin und Hypoxanthin.

Die für diesen Versuch angewandten Präparate waren als völlig rein erkannt. Das Hypoxanthin war aus Fleischextract dargestellt; sein Stickstoffgehalt, volumetrisch bestimmt, betrug 41,13% (berechnet ist 41,17%). Das Adenin war aus Thee in gut krystallisirtem Zustand gewonnen, der Stickstoffgehalt betrug 51,50 (berechnet für Adenin 51,6). Für den Trennungsversuch wurden 0,2250 gr. Hypoxanthin, 0,2090 gr. Adenin und 0,2180 gr. Guanin (bei 110° getrocknet) in salzsäurehaltigem Wasser gelöst. Die Lösung wurde ammoniakalisch gemacht und sofort mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt. Der Niederschlag wurde erwärmt, dann wieder erkalten gelassen, filtrirt, mit ammonhaltigem Wasser ausgewaschen. Das Filtrat war völlig frei von den Basen. Der Niederschlag wurde dann vom Filter genommen und Niederschlag sowie Filter jedes für sich in bekannter Weise mit Salpetersäure (spec. Gew. 1,1) unter Zusatz von Harnstoff auf dem Wasserbad erwärmt und filtrirt. Das Filtrat blieb nach Zusatz von etwas Silbernitrat 12 Stunden stehen, dann wurde es

filtrirt. Die abfiltrirte salpetersaure Flüssigkeit gab mit Ammoniak keinen Niederschlag, ein Beweis, dass kein Xanthin durch Zersetzung des Guanins gebildet war. Die ausgeschiedenen Silberverbindungen der drei Basen wusch ich zunächst mit kaltem Wasser zur Entfernung der Salpetersäure aus, spülte sie dann mit heisser verdünnter Ammoniakflüssigkeit vom Filter in eine Schale und digerirte sie längere Zeit auf dem Wasserbade. Dadurch wird die Salpetersäure aus der Doppelverbindung entfernt und die ursprüngliche Silberoxydverbindung regenerirt. Ich fügte zu dieser Ammoniakflüssigkeit etwas Silbernitrat hinzu, filtrirte nach dem Erkalten und wusch so lange mit kaltem Wasser aus, bis im Filtrat nach Zusatz von Salzsäure nicht die geringste Trübung von Chlorsilber zu bemerken war. Nun wurden die rein weissen Silberverbindungen in Wasser suspendirt und mit Schwefelammonium zersetzt. Hierbei sind einige Vorsichtsmassregeln zu beobachten, da das Schwefelsilber die Neigung hat, sich in fein vertheiltem, nicht filtrirbarem Zustande abzusetzen. Zur Bereitung des Schwefelammon verwandte ich Ammoniakflüssigkeit vom spec. Gew. 0,95, welche mit 2 Theilen Wasser verdünnt war. Man fügt die Schwefelammonlösung tropfenweise zu der siedenden Flüssigkeit. Das Absetzen des Niederschlages muss in der Wärme vor sich gehen, ein grosser Ueberschuss von Schwefelammon ist zu vermeiden. Die vom Schwefelsilber abfiltrirte klare, farblose Flüssigkeit enthält Adenin und Hypoxanthin völlig in Lösung, Guanin oft nur zum Theil (a), ein anderer Theil (b) ist in den Schwefelsilberniederschlag übergegangen. Man kocht deshalb diesen Niederschlag mit verdünnter Salzsäure aus und sättigt das Filtrat mit Ammoniak, nach einiger Zeit fällt das Guanin (b) völlig aus. Das in Lösung befindliche Guanin (a) wird nach der Digestion mit Ammoniak auf dem Wasserbad ausgeschieden. Ich vereinigte beide Portionen (a + b) auf einem bei 110° getrockneten und gewogenen Filter, wusch mit ammoniakhaltigem Wasser gut aus, trocknete und wog das Guanin (das Resultat siehe unten). Das ammoniakalische Filtrat, welches Adenin und Hypoxanthin enthielt, wurde auf dem

Wasserbad in gewogener Platinschale zur Trockne verdunstet, der Rückstand mit heissem Wasser aufgenommen und wieder eingedunstet, dann wurde die Schale mit Inhalt bei 110° getrocknet und gewogen. Ich erfuhr auf diese Weise das Gewicht von Adenin + Hypoxanthin. Ich führte nun eine Stickstoffbestimmung in dieser Mischung aus und suchte aus dem Stickstoffgehalt die relativen Mengen von Adenin und Hypoxanthin zu berechnen. Der Unterschied im Stickstoffgehalt beider beträgt 10,68 %. Die Resultate dieses Versuchs waren folgende:

	Angewandt: gr.	Gefunden: gr.
Guanin	0,2180	0,2161
Adenin + Hypoxanthin	0,4340	0,4305

Das Gemisch von Adenin und Hypoxanthin enthielt 46,04 % N.

Hypoxanthin enthält . . . . 41,17 % N,
Adenin enthält . . . . 51,85 % N.

Demnach bestand das Gemisch aus:

0,1961 gr. Adenin und
0,2344 gr. Hypoxanthin.

Angewandt wurden:

0,2090 gr. Adenin und
0,2250 gr. Hypoxanthin.

Drückt man die Resultate dieses Versuchs in Procenten der angewandten Substanz aus, so erhält man folgende Zahlen für die Fehler:

für Guanin ein Minus von . . . . 0,9 %,
für Adenin + Hypoxanthin ein Minus von . 0,8 %,
für Adenin ein Minus von . . . . 6,1 %,
für Hypoxanthin ein Plus von. . . . . . . 4,2 %.

Aus den Zahlen ergiebt sich, dass durch die analytischen Operationen ein wenig Adenin in Hypoxanthin umgewandelt wird. Die geringen Differenzen kommen bei den Analysen thierischer Organe kaum in Betracht. Sie verschwinden fast völlig, wenn man nur die Summe von Adenin und Hypoxanthin in Betracht zieht. Es giebt wenig organische Bestandtheile der Gewebe, die man mit einer gleichen Genauigkeit zu bestimmen im Stande ist. Die Abtrennung des Xanthins geschah in den unten angeführten Analysen nach

der bekannten Methode Neubauer's. Das Xanthin wurde zunächst als Xanthinsilber gefällt, dieser Niederschlag durch frisch bereitetes Schwefelammon gefällt und das Filtrat nach Verjagen des Schwefelammons von Neuem mit ammoniakalischer Silberlösung niedergeschlagen.

II. Quantitative Bestimmung der Basen in thierischen Organen.

Mit Hülfe des beschriebenen Verfahrens führte ich in folgenden Geweben quantitative Bestimmungen aus: 1. Hoden vom Stier, 2. Sperma des Karpfens, 3. Thymusdrüse des Rindes. Die vorbereitenden Operationen wurden nach den Vorschriften Kossel's ausgeführt. Das Gewebe mit sehr verdünnter Schwefelsäure mehrere Stunden erhitzt, die Flüssigkeit mit basischem Bleiacetat gefällt, filtrirt, ausgewaschen, das Filtrat durch Schwefelwasserstoff vom Blei befreit. Die Resultate sind folgende:

A. Hoden des Stieres.

1. 1235 gr. zerkleinerte Hodensubstanz gaben 0,8945 gr. Xanthinsilber entsprechend 0,3541 gr. Xanthin, ferner 0,2958 gr. Guanin und 0,4608 gr. Hypoxanthin, kein Adenin.

2. 950 gr. zerkleinerte Hodensubstanz gaben 0,683 gr. Xanthinsilber entsprechend 0,2703 gr. Xanthin, 0,2262 gr. Guanin, 0,361 gr. Hypoxanthin, kein Adenin.

Das Guanin wurde behufs weiterer Feststellung seiner Identität nach mehrmaliger Reinigung verbrannt und gab 46,33 % N, berechnet 46,36 % N.

Das Hypoxanthin ergab ohne weitere Reinigung 40,36 %, nach der Reinigung durch Kochen mit Zinkstaub 41,3 % N, berechnet ist 41,18 %.

3. 3,571 gr. Hodensubstanz gaben nach dem Trocknen bei 110° 0,479 gr. Trockensubstanz, d. i. 13,41 %.

B. Sperma des Karpfens.

Die Testikel des Karpfens wurden im April in folgender Weise verarbeitet: Die Spermatozoën durch Schütteln der zerschnittenen Testikel mit einer Lösung von Natriumsulfat

(1 conc. Lösung : 9 Wasser) aufgeschwemmt, durch ein Colirtuch von den Hodenbestandtheilen befreit, unter Zusatz von wenig Essigsäure centrifugirt. Die Spermatozoën konnten mit schwach essigsäurehaltigem Wasser ausgewaschen und völlig gereinigt werden. Die Masse wurde dann, da die Untersuchung nicht sofort möglich war, in Alkohol gebracht, der Alkohol später abfiltrirt und der Rückstand am Rückflusskühler mit $^1/_2$procentiger Schwefelsäure mehrere Stunden gekocht. Die Flüssigkeit wurde nach Entfernung der eiweisshaltigen Stoffe durch basisches Bleiacetat in der eben erwähnten Weise untersucht.

7,802 gr. trocknes Sperma lieferten 0,077 gr. Xanthinsilber, d. i. 0,03 gr. Xanthin.

Die Summe von Adenin und Hypoxanthin betrug 0,4187 gr. Der Stickstoffgehalt dieser Mischung war 45,71 %. Folglich bestand diese Mischung aus 0,1779 Adenin und 0,2408 Hypoxanthin. Aus dieser Mischung wurde das Adenin in völlig reinem und gut krystallisirtem Zustand dargestellt. Die Krystalle verloren ihr Krystallwasser beim Erhitzen auf 53° und erwiesen bei der Analyse (volumetrisch) einen Stickstoffgehalt von 51,70 % (berechnet für Adenin 51,85).

Guanin wurde in diesem Zustand überhaupt nicht gefunden. Dies führt mit Wahrscheinlichkeit zu dem Schluss, dass es Nucleïne giebt, bei deren Zersetzung überhaupt gar kein Guanin gebildet wird.

Um die Gesammtmenge der in dem Sperma enthaltenen Basen zu gewinnen, erübrigte es noch, den Alkohol zu untersuchen, der zur Fällung des Spermas gedient hatte, da vorauszusehen war, dass derselbe einen gewissen Antheil der Basen aufgenommen hatte. In demselben wurde nach vorhergehender Fällung mit Bleiacetat nur Hypoxanthin gefunden und zwar 0,07040 gr. Die Reinheit der Substanz wurde durch eine Analyse erwiesen (berechnet 41,18, gefunden 40,79). Die Gesammtmenge des Hypoxanthins im Sperma betrug somit 0,3112 gr.

Beiläufig sei erwähnt, dass ich den Procentgehalt der trocknen Spermatozoën an Phosphorsäure bestimmt habe. Derselbe betrug 13,01 % P_2O_5, entsprechend 5,59 % P.

C. Thymusdrüse des Kalbes.

Ich untersuchte dieses Organ als das Prototyp einer Drüse, die aus jugendlichem, zellenreichem Gewebe besteht.

1045 gr. des durch Präparation gereinigten Drüsengewebes nach oben beschriebenem Verfahren untersucht, lieferten 0,0785 gr. Guanin. Das Präparat zeigte alle Eigenschaften des Guanins, insbesondere die charakteristischen Formen des pikrinsauren und salzsauren Salzes.

Ferner erhielt ich 1,007 gr. Xanthinsilber, d. i. 0,398 gr. Xanthin. Letzteres wurde rein dargestellt und durch seine Reactionen identificirt.

Das Gemenge von Adenin und Hypoxanthin betrug 2,116 gr. Dasselbe enthielt 50,64% Stickstoff. Demnach befanden sich in dem Gemisch:

1,8761 gr. Adenin und
0,2399 gr. Hypoxanthin.

Aus dem Gemenge konnte das Adenin leicht in reinem Zustand dargestellt und an seinen Eigenschaften, sowie an denen seiner Salze erkannt werden. Da die grosse Menge des Adenins in diesem Organe sehr auffallend war, so analysirte ich das gereinigte Adenin, um jeden Zweifel auszuschliessen. Die Analyse ergab folgendes Resultat:

	Gefunden:		Berechnet
	I.	II.	für Adenin:
C	44,32	—	44,44
H	4,00	—	3,70
N	—	51,51	51,85.

Die gewonnenen Resultate sind in folgender Tabelle in Procenten zusammengestellt:

Gehalt der Gewebe an Basen in feuchtem Zustand.

Untersuchtes Organ.	Adenin.	Hypoxanthin.	Guanin.	Xanthin.
Hoden vom Stier I	0	0,0373	0,0239	0,0286
Hoden vom Stier II . . .	0	0,038	0,0237	0,0284
Thymus vom Kalb	0,179	0,0023	0,0075	0,038

Dasselbe auf trockne Gewebe untersucht.

Organe.	Adenin.	Hypo-xanthin.	Guanin.	Xanthin.
Hoden vom Stier I	0	0,278	0,178	0,233
Hoden vom Stier II . . .	0	0,284	0,177	0,212
Sperma vom Karpfen . . .	2,278	0,3088	0	0,36
Thymusdrüse des Kalbes . .	1,919	0,218	0,071	0,360

Es geht schon aus der Tabelle hervor, dass die Mengen der Basen, die sich in den Geweben vorfinden, nicht unbeträchtliche sind. Eine richtige Vorstellung von ihrer Menge und ihrer Bedeutung gewinnt man, wenn man berechnet, ein wie grosser Theil des gesammten Stickstoffs der Gewebe in Form der Basen vorhanden. Kossel hat bereits früher derartige Bestimmungen in einzelnen Organen ausgeführt, die indess nur die Gesammtsumme der Basen betrafen.

Eine Stickstoffbestimmung in der Thymusdrüse ergab, dass dieses Organ 24,8 % Stickstoff in der bei 110° getrockneten Drüsensubstanz enthielt. Hieraus ergiebt sich, dass 7,15 % des gesammten Stickstoffs in der Thymusdrüse in Form von Adenin enthalten sind.

III. Ueber die Einwirkung der Fäulniss auf Adenin und Guanin.

Die über das Vorkommen der Basen in den thierischen Organen gewonnenen Resultate regen die Frage an: Welches ist das Verhalten dieser Substanzen im thierischen Stoffwechsel? Wir beobachten ausserhalb des Organismus, dass die NH-Gruppe des Adenins und Guanins leicht abgespalten und durch O ersetzt wird. Findet dieser Process auch in den thierischen Organen statt? Spielt etwa diese Abspaltung von NH, die während des Lebens geschieht, eine Rolle bei der Wanderung des NH_2 vom Eiweiss zum Harnstoff, wie Kossel dies angedeutet hat?

Ich habe keine entscheidenden Versuche über diese Fragen machen können, aber ich habe einige Experimente

über die Einwirkung der Fäulniss auf Adenin und Guanin, sowie über das Verhalten dieser Basen beim Selbstgährungsprocess der Hefe angestellt, die ich von diesen Gesichtspunkten aus betrachtet wissen möchte. Der Fäulnissprocess ist, wie besonders Hoppe-Seyler mehrfach hervorgehoben hat, den Lebensprocessen analog, und der chemische Process, der sich durch Fäulniss vollzieht, kann sich auch in den thierischen Organen vollziehen. Die Selbstgährung der Hefe andererseits ist ein Lebensprocess, es ist einer der einfachsten vitalen Vorgänge, die unserem Experiment zugänglich sind, und ist, vom chemischen Standpunkt betrachtet, den Zersetzungsprocessen in den Geweben höherer Organismen sehr ähnlich. Ich will das Resultat der folgenden Versuche vorausschicken: bei der Fäulniss wird die Amidogruppe aus Adenin und Guanin abgespalten und durch O ersetzt, bei der Selbstgährung der Hefe findet wahrscheinlich dasselbe statt.

Versuche über das Verhalten der Basen bei Fäulniss sind bereits von A. Baginsky (Zeitschrift f. physiol. Chemie. Bd. VIII, S. 398) im hiesigen Laboratorium angestellt. Dieser Forscher fand, dass Guanin, Xanthin und Hypoxanthin in ungleichem Masse durch die Fäulniss zersetzt werden und zwar erwies sich das Hypoxanthin als das widerstandsfähigste.

A. Einwirkung der Fäulniss auf Adenin.

0,779 gr. Adenin wurden in 400 gr. Wasser gelöst, mit einem Pankreasinfus übergossen, welches durch Extraction von 250 gr. Pankreas mit 500 cbcm. kaltem Wasser hergestellt war. Die Fäulniss fand bei Luftabschluss statt in einem Gefäss, welches gestattete, die Menge des entwickelten Gases annähernd zu bestimmen. Die Temperatur betrug 19—22° C., der Versuch dauerte 3 Wochen. Die Untersuchung der Flüssigkeit ergab, dass das Adenin vollständig verschwunden war. Hingegen wurden 0,543 gr. Hypoxanthin aus dem Fäulnissgemisch gewonnen, kein Guanin, und Spuren von Xanthin. Die Menge des Hypoxanthins war selbstverständlich viel zu bedeutend, als dass sie aus dem Pankreasinfus hätte stammen

können. Die Elementaranalyse des Hypoxanthins ergab folgendes Resultat:

	Gefunden:		Berechnet:
	I.	II.	
C	43,95	—	44,11
H	3,15	—	2,94
N	—	41,25	41,18.

Es folgt aus diesem Versuch, dass eine Umwandlung des Adenins in Hypoxanthin durch die Fäulniss bei Luftabschluss stattfindet.

B. Einwirkung der Fäulniss auf Guanin.

Versuch 1. 1,094 gr. Guanin wurden nach Zusatz einiger Tropfen Natronlauge in circa 400 cbcm. siedendem Wasser gelöst, nach dem Erkalten das aus 250 gr. Pankreas bereitete Extract hinzugefügt. Nach 11 tägiger Fäulniss bei 18—21° C. hatten sich 26 cbcm. Gas entwickelt. Die Untersuchung der Flüssigkeit zu dieser Zeit ergab, dass kein Guanin, kein Adenin und Hypoxanthin mehr nachzuweisen war, hingegen wurden 0,669 gr. Xanthinsilber entsprechend 0,26 gr. Xanthin gefunden. Dass das Xanthin etwa aus dem Pankreasinfus herrühre, ist nicht anzunehmen, da die Menge desselben viel zu bedeutend ist. Das aus dem Pankreas stammende Hypoxanthin war vollständig durch die Fäulniss zersetzt. Wie die Untersuchungen Baginsky's beweisen, verschwindet das Xanthin bei der Fäulniss des Pankreas früher als das Hypoxanthin, folglich musste das in dem Pankreasinfus präformirte Xanthin zersetzt und das von mir aufgefundene Xanthin ein Zersetzungsproduct des hinzugefügten Guanins sein.

Demnach geht aus diesem Versuch hervor, dass das Guanin bei der Fäulniss in Xanthin übergeht.

Dasselbe Resultat ergab der folgende Versuch.

Versuch 2. 0,613 gr. Guanin wurden 4 Tage lang der Fäulniss bei Luftabschluss ausgesetzt, wobei sich 2 cbcm. Gas entwickelten. Der Pankreasauszug war mit 175 gr. Substanz bereitet worden.

Die Analyse der gefaulten Flüssigkeit ergab, dass noch nicht alles Guanin zersetzt war. Es wurden gefunden:

0,174 gr. Guanin,
1,0695 gr. Xanthinsilber, entsprechend 0,449 gr. Xanthin, und
0,495 gr. Hypoxanthinsilber, entsprechend 0,183 gr. Hypoxanthin.

Das aus dem Pankreas gewonnene Xanthin gab die bekannten Reactionen dieses Körpers und lieferte bei der Analyse so viel Stickstoff, wie 36,56 % entsprechen. Die berechnete Menge beträgt für Xanthin 36,84.

Die Zersetzung des Guanins durch die Fäulniss ist somit der des Adenins vollkommen analog. Beide Processe finden in folgenden Formeln ihren Ausdruck:

$$\underset{\text{Adenin}}{C_5H_5N_5} + H_2O = \underset{\text{Hypoxanthin}}{C_5H_4N_4O} + NH_3$$

$$\underset{\text{Guanin}}{C_5H_5N_5O} + H_2O = \underset{\text{Xanthin.}}{C_5H_4N_4O_2} + NH_3$$

Diese Processe finden manche Analoga unter den Zersetzungen, die durch Fäulniss hervorgerufen werden.

IV. Ueber das Verhalten der Basen bei der Selbstgährung der Hefe.

V. Lehmann hat im hiesigen Laboratorium das Verhalten der Basen bei diesem Process untersucht, ehe das Adenin bekannt war. Es konnten somit die oben erwähnten Fragen durch die Experimente des Herrn V. Lehmann noch nicht als erledigt betrachtet werden.

A. Ueber das Vorkommen des Guanins in der Hefe.

Ehe ich auf die Beschreibung meiner Versuche eingehe, will ich einen Versuch anführen, durch den ich das bisher in der Hefe ungenügend nachgewiesene Guanin mit Sicherheit als Bestandtheil dieses Pilzes feststellte.

Bereits Kossel hatte versucht, das Guanin in der Hefe sicher als solches zu erkennen, indess können die von ihm erzielten Resultate heute nach Auffindung des Adenins nicht als sicherer Beweis mehr gelten, zumal die Stickstoffbestimmung kein genaues Resultat ergeben hatte.

Zur Darstellung wurde die oben besprochene Digestion mit warmer wässeriger Ammoniaklösung benutzt. Das gegewonnene Guanin wurde dann mit Hülfe einiger Tropfen Salzsäure gelöst und die Lösung mit Quecksilberchlorid versetzt, das durch Schwefelwasserstoff vom Quecksilber befreite Filtrat fast bis zur Trockne eingedampft. Es krystallisirte salzsaures Guanin aus. Die in Wasser gelösten Krystalle wurden dann durch Ammoniak zersetzt und die ausfallende Base analysirt.

	Gefunden:	Berechnet:
Stickstoff	46,54	46,36.

Somit ist das Vorkommen des Guanins in der Hefe festgestellt.

B. Versuche über die Selbstgährung der Hefe.

Die Experimente wurden in folgender Weise ausgeführt: Von der zum Versuch benutzten Presshefe wurden 4 gleiche Portionen zu 400 gr. abgewogen.

Im ersten Theil wurden die Basen sofort bestimmt (I); im zweiten nach 24stündiger (II), im dritten nach 48stündiger (III), im vierten nach 72stündiger Digestion (IV) mit Wasser bei Zimmertemperatur.

I. 400 gr. Hefe gaben 0,5476 gr. der Mischung von Adenin und Hypoxanthin. Die Mischung enthielt 44,65% N. Daraus ergiebt sich, dass die Mischung bestand aus:

0,1735 gr. Adenin und 0,3741 gr. Hypoxanthin.

Ausserdem wurden gefunden:

0,115 gr. Guanin und 0,248 gr. Xanthinsilberoxyd.

II. Nach 24 Stunden:

Gemisch von Hypoxanthin und Adenin. 0,244 gr.
Stickstoffgehalt des Gemisches . . . . 42,69%.

Demnach bestand das Gemisch aus:

0,0346 gr. Adenin und 0,2094 gr. Hypoxanthin.

Ausserdem: Guanin . . . . . 0,0104 gr.
Xanthinsilber . . . 0,255 gr.

III. Nach 48 Stunden:

Adenin war verschwunden.
Hypoxanthin . . . 0,197 gr.
Stickstoffgehalt des Hypoxanthins 41,25 % (berechnet 41,18 %).
Ausserdem: Guanin . . . . . 0,0711 gr.
Xanthinsilber . . . 0,248 gr.

IV. Nach 72 Stunden: Die Basen sind bis auf geringe Spuren verschwunden.

Die Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

	Frische Hefe.	Nach 24 stündiger Selbstgährung.	Nach 48 stündiger Selbstgährung.	Nach 72 Stunden.
Adenin	0,1735	0,0346	Spuren	0
Hypoxanthin	0,3741	0,2094	0,197	0
Guanin	0,115	0,0104	0,0711	0
Xanthin . . . , ...	0,0982	0,1009	0,0985	0

Aus diesen Versuchen lässt sich nicht mit Sicherheit eine Umwandlung des Adenins in Hypoxanthin oder des Guanins in Xanthin erschliessen, sie sind aber auch nicht im Widerspruch mit einer solchen Annahme. Es zeigt sich auch hier, ebenso wie bei den Fäulnissversuchen, dass die Zersetzung des Adenins viel schneller erfolgt, als die des Hypoxanthins und des Xanthins.

Indess war das Verhalten des Guanins ein unregelmässiges. Bemerkenswerth ist die Constanz des Xanthins in den ersten 3 Tagen.

In Anbetracht der Thatsache, dass jetzt brauchbare Methoden für die quantitative Bestimmung dieser Körper in den Thier- und Pflanzenstoffen vorliegen, darf man hoffen, dass weitere in derselben Richtung angestellte Versuche eine Aufklärung über die physiologische Bedeutung dieser Basen geben werden.

Eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des Nicotins[1].

Von

Maximilian Popovici.

(Mittheilung aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)
(Der Redaction zugegangen am 1. März 1889.)

Schon längere Zeit im Auftrage der Rumänischen Tabaksregie mit der Untersuchung rumänischer Tabake beschäftigt, folgte ich im Winter-Semester 88/89 dem Vorschlage des Herrn Prof. A. Kossel, einmal zu versuchen, ob sich das Verhalten des Nicotins[2] zum polarisirten Lichte nicht zur quantitativen Bestimmung dieser Base verwerthen lasse. In der That gelang es mir, auf diesem Wege eine Methode zu finden, welche, wie aus den weiter unten mitzutheilenden Einzelheiten ohne Weiteres ersichtlich ist, an Einfachheit und Zuverlässigkeit alle bis jetzt bekannten Methoden der Nicotinbestimmung bei Weitem übertrifft.

Zur Extraction des Nicotins aus dem Tabak bediente ich mich des von Kissling angegebenen Verfahrens, nach welchem eine gewogene Menge, 20 gr.[3]), ziemlich homogenes

---

[1]) Die ausführliche Mittheilung erfolgt später in der Inaugural-Dissertation des Verfassers.

[2]) Das specifische Drehungsvermögen des Nicotin $(\alpha)_D = 161,55$ (Landolt). Nicotin für sich und in alkalischer Lösung ist links-, in saurer Lösung rechtsdrehend.

[3]) Von nicotinarmen Tabaken können 30—40 gr. zur Behandlung gelangen.

Tabakspulver mit 10 cbcm. einer verdünnten alkoholischen Natronlösung (6 gr. Natriumhydroxyd in 40 cbcm. Wasser gelöst und mit 60 cbcm. circa 95procentigem Alkohol versetzt) imprägnirt und dann in einem Soxhlet'schen Extractions-Apparat mit Aether 3—4 Stunden ausgezogen werden.

Der ätherische Auszug wird nun in demselben Kolben, welcher das Aetherextract am Extractions-Apparat aufgenommen hat, mit 10 cbcm. einer ziemlich concentrirten salpetersauren Phosphormolybdänsäurelösung geschüttelt, wodurch Nicotin, Ammoniak etc. als ein leicht zu Boden sinkender Niederschlag ausgefällt werden, und die überstehende Aetherschicht sorgfältig abgegossen. Der den Niederschlag enthaltende Schlamm wird durch Zusatz von destillirtem Wasser auf das Volumen von 50 cbcm. gebracht und alsdann das Nicotin durch Hinzufügung von 8 gr. fein gepulvertem Bariumhydroxyd in Freiheit gesetzt. Da die Zersetzung langsam erfolgt, so empfiehlt es sich, den Kolben mindestens einige Stunden, unter zeitweiligem Umschütteln, stehen zu lassen. Der anfänglich blaue Niederschlag ändert seine Farbe bald in blaugrün und wird schliesslich gelb.

Das erhaltene alkalische Zersetzungsproduct, welches freies Nicotin enthält, wird filtrirt, mit dem immer etwas gelb gefärbten klaren Filtrate eine Polarisationsröhre gefüllt, und mittelst eines Polarisationsapparates der Drehungswinkel in Minuten abgelesen.

Um aus dem Drehungswinkel die Menge des Nicotins zu berechnen, bediente ich mich einer Tabelle, welche in folgender Weise zusammengestellt ist. Ich bereitete ätherische Lösungen von bekanntem Gehalt an Nicotin, fällte aus denselben genau nach dem eben angegebenen Verfahren das Nicotin heraus und bestimmte die Ablenkung der Polarisationsebene durch eine zwei Decimeter lange Schicht der Lösung. Durch die Untersuchung von 15 verschiedenen Lösungen, deren Nicotingehalt zwischen 0,250 gr. und 2,000 gr. in 50 cbcm. wechselte, gewann ich die in Tabelle I enthaltenen Zahlen.

Um nun einen Tabak auf seinen Nicotingehalt zu prüfen, behandelt man eine abgewogene Menge desselben in der oben ausgeführten Weise und bestimmt den Drehungswinkel der so erhaltenen Nicotinlösung.

Aus der gefundenen Zahl (Minuten) ergibt sich dann der Nicotingehalt der angewandten Tabaksmenge entweder durch directe Vergleichung dieser Zahl mit der Tabelle oder durch Multiplication derselben mit den in der letzten Colonne der Tabelle angegebenen Coefficienten.

Tabelle I.

	50 cbcm. Lösung enthalten Nicotin in gr.	Differenz in gr.	Die beobachteten Drehungswinkel in Minuten.	Differenz in Minuten.	Einer Minute entsprechende Nicotinmenge in gr.
1	2,000	—	337	—	—
2	1,875	0,125	318	19	0,00658
3	1,750	»	298	20	0,00625
4	1,625	»	278	»	»
5	1,500	»	258	»	»
6	1,375	»	238	»	»
7	1,250	»	217	21	0,00595
8	1,125	»	196	»	»
9	1,000	»	175	»	»
10	0,875	»	154	»	»
11	0,750	»	133	»	»
12	0,625	»	111	22	0,00569
13	0,500	»	89	»	»
14	0,375	»	67	»	»
15	0,250	»	45	»	»

Für die Aufstellung einer solchen Tabelle, sowie für die practische Ausführung der Versuche ist zu beachten, dass die Menge des Fällungsmittels, des hinzuzufügenden Wassers, des zur Zersetzung des Niederschlages angewandten Alkalis, sowie die Länge der zur Polarisation dienenden Röhre bei allen Versuchen genau dieselbe sein muss. Naturgemäss wird sich

die Genauigkeit der Resultate mit der Länge des benutzten Polarisationsrohres und der Vollkommenheit des angewandten Polarisationsapparates steigern.

Mir stand zu meinen Untersuchungen eine Röhre von 2 Decimeter Länge, sowie ein mittelgrosser Halbschattenapparat zur Verfügung, dessen Angaben sich allerdings nur auf Minuten erstreckten. Dies, sowie der Umstand, dass meine Natriumflamme nicht ganz gleichmässiges Licht gab, veranlassten mich, jedesmal 5 Ablesungen vorzunehmen, aus den gefundenen Zahlen das arithmetische Mittel als gefundenen Werth anzunehmen und in runden Zahlen von Minuten anzugeben. Die Differenz zwischen 2 Beobachtungen war ni[illegible] grösser als 2—5 Minuten.

Zur Prüfung der Genauigkeit der von mir bearbeiteten Methode bestimmte ich den Nicotingehalt verschiedener rumänischer Tabakssorten zugleich nach meiner, sowie nach der Kissling'schen Methode, die bis jetzt als die brauchbarste galt. Das von Kissling angegebene Verfahren besteht bekanntlich aus folgenden Manipulationen. Man extrahirt den Tabak mit Aether, wie es oben angegeben ist, befreit sodann das Aetherextract durch Destillation vom Aether, nimmt den Rückstand mit Wasser auf und destillirt das Nicotin nach Zusatz von einer vorgeschriebenen Menge Natronhydrat mit Wasserdämpfen über. Im Destillat bestimmt man die Menge der freien Base durch Titration[1]).

Die Resultate der vergleichenden Versuche sind in der nachfolgenden Tabelle II zusammengestellt. Nach meiner Methode erhielt ich regelmässig etwas mehr Nicotin, als bei Anwendung des Kissling'schen Verfahrens. Wahrscheinlich ist diese Differenz darauf zurückzuführen, dass bei Anwendung der Kissling'schen Methode stets ein wenig Nicotin während des Abdestillirens des Aethers verflüchtigt wird.

---

[1]) Statt Rosolsäure benutzte ich Phenacetolin als Indicator, das bei Nicotin einen deutlicheren Farbenübergang aufweist.

Tabelle II.

	Tabakssorten.	Nicotin-Gehalt in %	
		nach Kissling	Polarimetrisch.
1	Persitschan in Rumänien gebaut (fermentirt)	2,90	2,91
2	» » » » (nicht ferm.)	3,13	3,16
3	» in der Türkei » (fermentirt)	3,29	3,31
4	Samson in Rumänien gebaut (fermentirt) . .	2,78	2,82
5	» » » » (nicht ferm.). .	1,88	1,94
6	» in der Türkei » (fermentirt) . .	3,86	3,95
7	Jaka in Rumänien gebaut (fermentirt) I. Qualität	3,64	3,68
8	» » » » » II. »	3,41	3,45
9	» » » » » III. »	3,83	3,88
10	» » » » (nicht ferm.) I. »	3,84	3,88
11	» » » » » » II. »	3,13	3,21
12	» » » » » » III. »	2,99	3,00
13	» in der Türkei » (fermentirt) I. »	3,57	3,62
14	» » » » » » II. »	2,93	2,94
15	» » » » » » III. »	3,47	3,51

Ueber Lösung und Fällung von Eiweisskörpern durch Salze.

Von

Dr. Ph. Limbourg in Strassburg i. E.

(Der Redaction zugegangen am 2. März 1889.)

Ein vielfach untersuchter Vorgang ist die Veränderung, welcher Fibrin in Salzlösungen unterliegt. Die in denselben eintretende Lösung[1]) wurde besonders von Denis[2]) untersucht. Er lenkte in hohem Masse die Aufmerksamkeit seiner Zeitgenossen (Berzelius, [Liebig und] Scherer[3]), Nasse[4]), Zimmermann[5]), Virchow[6]) u. a.) auf diese Erscheinung. Es zeigte sich, dass die Schnelligkeit, mit welcher eine solche Umwandlung des Faserstoffs vor sich geht, sehr wechselnd ist. Es wurde sogar behauptet, dass nur das aus venösem Blut stammende Fibrin in Salzwasser löslich sei (Denis, Scherer u. a.), was aber bereits Zimmermann widerlegte.

Als Eigenschaften des gelösten Fibrins beschreibt Denis[7]): Gerinnung beim Erhitzen, Niederschläge bei starkem Verdünnen

---

[1]) Dieselbe ist schon de Haen, Scheidemantel, Arnold bekannt gewesen.

[2]) P. S. Denis, Nouvelles études chimiques, physiologiques et médicales sur les substances albuminoides. Paris 1856.

[3]) Liebig's Annalen, Bd. XL; ferner Scherer in Cannstatt's Jahresbericht, 1843, I, S. 133, und 1846, I, S. 99.

[4]) Nasse, Blut in Wagner's Handwörterbuch der Physiologie, Bd. I, 1842.

[5]) Wochenschr. f. d. ges. Heilkunde von Casper, 1843, No. 30; ferner Arch. f. physiol. Heilkunde, 1846.

[6]) Henle's und Pfeufer's Zeitschrift, Bd. IV u. V, 1846.

[7]) Nouvelles études etc., p. 112 et 113; und Mémoire sur le sang, p. 44.

mit Wasser, beim Zufügen von Alcohol, verdünnten Säuren, Sublimat und nach dem Eintragen von Magnesiumsulfat bis zur Sättigung. Flockige Coagulation beobachtete er bei einer Temperatur von 60—65° C. Beim weitern Erhitzen zum Sieden entstand eine zweite Abscheidung. Der durch Alcohol oder Magnesiumsulfat bewirkte Niederschlag war in salzhaltigem Wasser löslich. Wenn die durch Kochen gerinnbaren Eiweissstoffe abfiltrirt wurden, erhielt Scherer[1]) mit Essigsäure nochmals eine Fällung. Durch längere Einwirkung von Alcohol und durch Kochen verliert der Faserstoff seine Löslichkeit (Denis, Scherer, Brücke[2]) u. a.).

Dass Fibrin unter gewissen Umständen sich in Salzwasser löst, beobachtete auch Plósz[3]). Gautier[4]) macht die abweichende Angabe, dass dabei Albumin entstehe. Ausserdem trete eine zweite, nicht coagulable Substanz auf. Durch Hammarsten[5]) wird wieder eine Umwandlung in Globulin festgestellt.

Plósz, Kistiatowsky[6]) und Herrmann[7]) konnten aus Fibrin mit Salzwasser einen Körper auswaschen, den sie für bei der Fibrinbildung mitgerissenes Serumglobulin erklären. Nach Herrmann, mit dem Green[8]) übereinstimmt, coagulirt der Eiweisskörper, welcher hauptsächlich aus Fibrin durch Behandeln mit 10procentiger Kochsalzlösung entsteht, bei ca. 55° C. Green erhielt ausserdem eine bei 59—60° gerinnende Globulinsubstanz.

Die Beobachtung, dass ausser Neutralsalzen auch Harnstoff, ein organischer Körper, fibrinlösend wirkt, veranlasste mich, den Vorgang näher zu untersuchen.

---

[1]) Cannstatt's Jahresbericht über d. Fortschr. d. ges. Medicin, 1846, I, S. 100.

[2]) Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wissensch., Bd. XXXVII, 1, S 131, 1859.

[3]) Arch. f. d. ges. Physiologie, Bd. VII, 1873.

[4]) Comptes rendus, 1874, T. II, p. 227.

[5]) Arch. f. d. ges. Physiologie, Bd. XXX, 1883; ferner Jahresber. d. Thierchemie von Maly, Bd. V, S. 19, 1875.

[6]) Arch. f. d. ges. Physiologie, Bd. IX, 1874.

[7]) Diese Zeitschrift, Bd. XI, 1887.

[8]) The Journ. of Physiol., Vol. VIII, 1887.

Ich brachte gut ausgewaschenes Fibrin[1]) in meist concentrirte Lösungen von Salzen der Alkalien und Erden und einiger organischer Verbindungen. Der Faserstoff erleidet in denselben zunächst eine mehr oder weniger starke Quellung, deren Grad von der einwirkenden Substanz abhängig ist, und geht dann allmählich in Lösung über. Die neutrale fade, aber nicht unangenehm riechende Flüssigkeit gibt Eiweissreactionen: Gerinnung beim Erwärmen, Fällungen auf Zusatz von Säuren und anderen Reagentien (Ferrocyankalinm, Phosphorwolframsäure, Jodquecksilberjodkalium, Gerbsäure, Sublimat, geeignet angewandt), Niederschläge bei Sättigung mit Chlornatrium oder Magnesiumsulfat, ferner Violettfärbung mit Natronlauge und Kupfersulfat.

Die durch Sättigung mit Magnesiumsulfat bei 30° oder mit Chlornatrium bei gewöhnlicher Temperatur, ferner die durch Dialyse ausgeschiedenen Eiweissstoffe werden nicht in Wasser, dagegen in verdünnter Kochsalzsolution löslich gefunden. Nach Ausfällung der coagulablen Eiweissstoffe lässt sich durch Essigsäure[2]) eine Substanz isoliren, welche in Wasser leicht löslich ist, durch Essigsäure und Ferrocyankalium gefällt wird und mit Natronlauge und etwas Kupfersulfat Rothfärbung gibt. Nachdem auch dieser Körper aus der mit Magnesiumsulfat und Essigsäure versetzten Lösung entfernt ist, wird stark angesäuert und mit Phosphorwolframsäure gefällt. Der Niederschlag wird mit schwefelsäurehaltigem Wasser gewaschen und mit Aetzbaryt zerlegt. Nach Entfernung des letzteren durch Kohlensäure wird auf ein kleines Volumen eingedampft. Durch Alcohol absolutus entsteht ein Niederschlag, welcher durch Löslichkeit und Biuretreaction als Pepton charakterisirt wird.

Die Harnstoff-Eiweisslösungen verhielten sich etwas abweichend, indem Erhitzen ohne deutlichen Einfluss

---

[1]) Verwendet wurde meist Fibrin aus Schweineblut. Rinderfibrin scheint weit schwerer löslich zu sein, wird aber durch Harnstoff leicht in Lösung übergeführt.

[1]) Nach Hoppe-Seyler, Handbuch d. physiol.- u. path.-chem. Analyse, 5. Aufl., 1883, S. 283.

blieb[1]). Auch die Dialyse erwies sich nicht als anwendbar. Das dicke Pergamentpapier liess die Albuminstoffe durch, und ihre Menge in der Innenflüssigkeit schien in demselben Masse abzunehmen wie der Harnstoffgehalt. Beim Eindampfen der den Dialysator umgebenden Flüssigkeit wurde coagulirtes Eiweiss neben Pepton erhalten[2]).

Ich untersuchte hierauf die gerinnbaren Eiweisssubstanzen. Die bisherigen eingangs angeführten Untersuchungen liessen ausschliesslich oder doch hauptsächlich Globuline erwarten.

Fibrin aus Schweineblut wird in circa die achtfache Menge einer gesättigten Kaliumnitratlösung verbracht. Am folgenden Tage gibt die Flüssigkeit deutliche Eiweiss- und Biuretreaction. Nach 4 Tagen ist das Fibrin bis auf einen geringen Rest gelöst. Nach der Filtration durch Papier wird der Gerinnungspunkt festgestellt. Bei 50° C. erfolgt eine Trübung, welche bei 53—56° sich in Flocken abscheidet. Das Filtrat trübt sich wieder bei 71—76° C. In einem Theile der ursprünglichen Lösung werden die Albuminstoffe durch eingesetzte Steinsalzstücke ausgefällt. Der in 5procentiger Kochsalzsolution gelöste Niederschlag zeigt die eben angeführten Gerinnungstemperaturen. Das gleiche Resultat ergeben die im Dialysator ausgeschiedenen Eiweissstoffe.

In den vorstehenden Versuchen habe ich Pepton, Propepton, ferner zwei Körper nachgewiesen, welche wegen ihrer Eigenschaften den Globulinen beizuzählen sind. Albumin[3]) habe ich nicht gefunden. Ich kann daher ebenso wenig wie andere Gautier's Angabe bestätigen. Letzterer entfernte

---

[1]) Man wird hier an das Verhalten des Schmidt-Aronsteinschen salzarmen Albumins erinnert.

[2]) So weit waren meine Untersuchungen mit Harnstoff und einigen Salzen geführt, als äussere Verhältnisse mich veranlassten, sie abzubrechen. Mit freundlicher Erlaubniss des Herrn Professor H. Meyer in Marburg gestattete mir gütigst Herr Professor Kossel, dieselben in der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts in Berlin fortzusetzen.

[3]) Durch grosse Wassermengen lässt sich dasselbe offenbar vollständig auswaschen.

die Salze nicht vollständig durch Dialyse. Ferner gründete er seine Behauptung, dass Albumin aus dem Faserstoff entstehe, auf das Verhalten zu Essigsäure, die ihm keine Fällung lieferte. Bekanntlich ist aber ein sehr geringer Ueberschuss dieser Säure im Stande, einen Niederschlag von Eiweissstoffen wieder aufzulösen oder die Bildung desselben zu verhindern. Gautier handelte vielleicht unter dem Einflusse der bereits von Denis[1]) widerlegten Behauptung von Wurtz, dass bei der Fibrinfäulniss Albumin sich bilde.

Nach den Untersuchungen von Plósz, Kistiatowsky und Herrmann kann kein Zweifel obwalten, dass der bei 75° C. coagulirende Eiweissstoff mit Serumglobulin identisch ist. Das widersprechende Resultat Green's beruht auf einer Täuschung (s. u). Dieselbe Substanz wurde aus Fibrin auch bei der Pancreas- [Otto[2])] und Magenverdauung [Hasebroek[3])] und bei der Fäulniss [Hoppe-Seyler[4])] erhalten.

Die Bedeutung der zweiten Globulinsubstanz ist schwieriger festzustellen. Sie ist als das eigentliche Product der Fibrinlösung aufzufassen und entsteht ebenfalls bei der Magen- (Hasebroek) und Pancreasverdauung (Herrmann) und bei der Fäulniss (Denis). Aus seiner Lösung wird der Körper, wie ich in Uebereinstimmung mit Hasebroek, Herrmann und Green gefunden habe, durch Erhitzen auf ca. 55° C. ausgeschieden. Nach Denis liegt die Temperatur um 5—10° höher.

Die früheren Untersucher haben mit den verschiedensten Salzen Fibrin in Lösung überführen können. Ausser von Kali nitricum sah ich eine ähnlich intensive Wirkung von Kaliumchlorat, Ammoniumnitrat, ferner von Jodkalium, Bromkalium, Jodnatrium. Die Sulfate von Ammonium und Magnesium waren, wenigstens in concentrirterer Lösung, völlig unwirksam. Chlorammonium, Chlornatrium, Kalium- und Natriumsulfat hatten in stärkerer Concentration nur einen

---

[1]) Nouvelles études etc., p. 115.
[2]) Diese Zeitschrift, Bd. VIII, 1883.
[3]) Diese Zeitschrift, Bd. XI, 1887.
[4]) Physiologische Chemie, Berlin 1881, S. 417.

geringen Einfluss. Ganz besonders wirksam erwies sich Harnstoff. Auch mit Rohrzucker und Milchzucker hatte ich einen gewissen Erfolg. Wirksam sind also nicht allein Körper, welche den Neutralsalzen angehören, sondern auch andere müssen hinzugerechnet werden. Es sind feste Verbindungen, welche bei neutraler Reaction in Wasser leicht löslich sind, also Körper, die zur pharmakologischen Gruppe der Salze[1]) gehören. Die geeignetste Concentration derselben scheint innerhalb breiter Grenzen zu schwanken, aber für jede einzelne Substanz verschieden zu sein. Für Kochsalz empfiehlt Denis die 10procentige Lösung. Von Harnstoff und Kaliumnitrat ist die concentrirte Lösung entschieden wirksamer als eine verdünntere. Für die Auffassung des Vorganges ist es vielleicht nicht überflüssig, wenn ich erwähne, dass für concentrirte Salzlösungen die Reihenfolge der Wirksamkeit ihrem Eiweissfällungsvermögen[2]) sich umgekehrt verhält.

Ein anderer Eiweisskörper, dessen Lösungsverhältnisse durch Salze sehr beeinflusst werden, ist das Casein[3]). Dasselbe geht bekanntlich sehr leicht Umwandlungen ein unter Bildung von Pepton, welches in frischer Milch nur in Spuren vorhanden ist, sich aber bald beim Stehen bildet [Hoppe-Seyler[4])]. Ich stellte mir Casein dar, indem ich Milch mit der zehnfachen Menge Wasser verdünnte und mit Essigsäure ausfällte. Die gesammelten Flocken wurden gut ausgewaschen, zu demselben Flüssigkeitsvolumen gelöst und von Neuem niedergeschlagen und ausgewaschen. Das so erhaltene Casein wird der Einwirkung einer concentrirten Kaliumnitratlösung ausgesetzt. Ein Theil wird zum Vergleich mit destillirtem Wasser übergossen. Letzteres zeigt bald schwache Biuretreaction, die in den nächsten Tagen nicht zunimmt, obschon sich intensiver Fäulnissgeruch entwickelt. Das Casein scheint

---

[1]) s. Schmiedeberg, Grundriss der Arzneimittellehre, 2. Aufl., Leipzig 1888, S. 190.

[2]) s. Hofmeister, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXIV, 1888.

[3]) s. Hammarsten, citirt nach Maly, Jahresber. d. Thierchemie, Bd. VI, S. 158.

[4]) Handbuch der physiol.- u. path.-chem. Analyse, S. 480.

durch die Fäulniss nicht wesentlich angegriffen zu sein. Anders verhält sich das in die concentrirte Salzlösung gebrachte Casein. Es wird schon nach kurzer Zeit intensive, schnell zunehmende Biuretreaction erhalten. Der Eiweisskörper löst sich in einigen Tagen vollständig auf und scheint weitgehenden Veränderungen zu unterliegen.

Da die unter dem Einfluss von Salzen etc. erfolgende Fibrinveränderung von einer gewöhnlichen Lösung in mancher Beziehung sich unterscheidet, so ist der Vorgang in der verschiedensten Weise gedeutet worden. Die Anschauung, dass er durch Fäulniss hervorgerufen werde, bekämpfte bereits Denis. Beruhte die Lösung auf Fäulniss, so wäre der Einfluss des Salzes unverständlich. Plósz suchte die Ursache in einem fibrinlösenden Fermente. Es sind aber keine Fermente bekannt, die in concentrirter Salzlösung wirken und besser wirken als in reinem Wasser. Die Erklärung Hammarsten's[1]), dass die Lösung des Fibrins durch Neurin[2]), das aus bei der Fibrinbildung mitgerissenem Lecithin entstehe, bewirkt werde, ist nicht bewiesen und lässt sich ebenfalls nicht mit der Thatsache, dass concentrirte Salzlösungen die Auflösung beschleunigen können, in Einklang bringen. Herrmann sah die Bildung des bei 55° coagulirenden Eiweisskörpers bei Einwirkung von 10procentiger thymolisirter Kochsalzlösung erst nach 8—14 Tagen eintreten und möchte aus diesem Grunde sich für Fäulniss als Ursache aussprechen, auch wenn er dieselbe nicht nachweisen konnte. Denis dagegen vermochte bereits in 1—2 Stunden Fibrin in Salzwasser aufzulösen. Auch Green stellt Fäulniss in Abrede.

Auch ich konnte bei meinen Versuchen eine bacterielle Zersetzung als Ursache dieser Umwandlung des Fibrins ausschliessen. Die Reaction der erhaltenen Eiweisslösungen habe ich nicht alkalisch gefunden. Auch wurde kein Fäulnissgeruch

---

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. XXX, S. 451.

[2]) Bekanntlich fand Mauthner (Med. Jahrb., 1874, S. 347), dass Neurin in 1—2procentiger Lösung Fibrin auflöst. Neurin ist aber ein basischer Körper. Ueber die Einwirkung von Alkalien auf Faserstoff s. Neumeister, Zeitschr. f. Biologie, Bd. XXIII, 1887.

wahrgenommen[1]). Die von mir benutzten Lösungen waren in der Regel mit Salz völlig gesättigt und konnten viele Wochen aufbewahrt werden, ohne üblen Geruch oder alkalische Reaction anzunehmen. Auch wirkt Fäulniss unter denselben Bedingungen weit schwächer auf Fibrin als die Salzsolution. Fibrin, welches im Spätsommer in eine 0,6procentige Kochsalzlösung verbracht war, roch nach 9 Tagen stark faulig; die Flüssigkeit gab aber nur undeutlichen Eiweissgehalt und keine Biuretreaction, während gleich alte concentrirte Lösungen, die mit Hülfe von Chlorkali und Kali nitricum bereitet waren, keine Spur von Fäulniss, dagegen starke Eiweissreaction und Violettfärbung mit Kupfersulfat und Natronlauge erkennen liessen. Virchow konnte bereits eingetretene Fäulniss von Faserstoff mit einer zur Sättigung ungenügenden Menge von Salpeter aufhalten (5 gr. Fibrin mit 5 gr. Salpeter und 1,25 Unzen Wasser). Endlich kann ich wie Green anführen, dass meine Untersuchungen zum grössten Theil während des kalten Winters 1887/88 durchgeführt wurden.

Man könnte daran denken, dass bei der Lösung des Fibrins durch Salze aus diesem die Elemente regenerirt würden, aus denen das Fibrin entstanden ist. Es gelang mir indess ebenso wenig wie Hoppe-Seyler[2]), Hasebroek, Herrmann, Green, Fibrinogen durch Fibringerinnung nachzuweisen.

Eine einfachere Erklärung ist jedoch möglich. Denis glaubte, es gehe unverändertes Fibrin durch Salzwasser in Lösung. Die mit Fibrin bezeichnete Substanz ist wohl kein einheitlicher chemischer Körper. Es ist wahrscheinlich, dass das bei 55° C. coagulirende Globulin bereits darin enthalten ist und durch Salzwasser gelöst wird, wie schon geringe Salzmengen die Ausscheidung resp. Bildung des Fibrins verhindern können (Hammarsten). Wenn diese Auffassung richtig ist, so muss man annehmen, dass jener Körper zur Fibringerin-

---

[1]) Waren didse Bedingungen nicht erfüllt, so wurde der Versuch als misslungen angesehen.

[2]) Physiologische Chemie, S. 417.

nung in Verbindung steht. Ueber diesen Punkt haben meine Versuche noch kein abschliessendes Resultat ergeben.

Dass die Fibrinlösung durch verschiedenartige Substanzen herbeigeführt wird, durch organische sowohl als anorganische, welche gewisse physikalische Eigenschaften gemeinsam haben, spricht für einen rein physikalischen Vorgang. Propepton und Pepton würden alsdann die Rolle bedeutungsloser Zersetzungsproducte einnehmen, wie ja die Eiweissstoffe überhaupt sehr leicht veränderlich sind. Es wäre so eine gewisse Analogie vorhanden mit Casein, das sich sehr leicht unter Auftreten von Pepton zersetzt.

Ich will hier auf bereits veröffentlichte Untersuchungen[1] hinweisen, in denen ich zeigte, dass concentrirte Harnstoff- und Sulfoharnstofflösungen die Gewebe der Bindesubstanzen in eine gallertige Lösung überführen, welche ich nach den Reactionen für Leim erklärt hatte. Ich wies auch Leimpepton durch die Biuretreaction nach. Die gesättigte Harnstofflösung wirkte entschieden intensiver als eine 30procentige. Offenbar ist dieser Process mit der Einwirkung von Harnstoff und Salzen auf Fibrin hinsichtlich der Ursache identisch.

Ich schliesse hier einige Beobachtungen an über den bekannten Einfluss der Salze auf die Coagulationstemperatur der Eiweissstoffe und ihr Vermögen, letztere aus ihrer Lösung auszufällen. Zunächst führe ich hierfür einen Versuch an, der zugleich die Angabe Zimmermann's bestätigt, dass die Auflösung von Fibrin durch Salze durch höhere Temperatur beschleunigt wird.

Zwei Portionen, aus je 20 cbcm. einer bei Zimmertemperatur gesättigten Kaliumnitratlösung und 2 gr. Fibrin bestehend, werden im Wasserbade bei ca. 40° C. erwärmt. Eine dritte ebenso zusammengesetzte Vergleichsprobe steht bei Seite in einer Temperatur, die den Nullpunkt wenig überschreitet. Am folgenden Tage ist das in der Kälte stehende Fibrin stark gequollen, scheint aber sonst wenig verändert

---

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. XLI, 1887.

zu sein, und es dauert mehrere Tage bis zur völligen Auflösung. Das Fibrin der beiden erwärmten Portionen geht dagegen innerhalb ca. 18 Stunden vollständig in Lösung. Letztere concentrirt sich in Folge von Wasserverdunstung im Laufe der nächsten Tage. Salzkrystalle scheiden sich ab, und zugleich fallen die Albuminstoffe grösstentheils wieder aus. Nach der Filtration untersuchte ich das Filtrat auf gerinnbare Eiweissstoffe. Bei ca. 45° tritt eine geringfügige Coagulation ein, dagegen erfolgt zwischen 50 und 55° keine deutliche Trübung mehr.

Das Ausbleiben der letzteren wird durch den folgenden Versuch erklärt.

In eine filtrirte Auflösung von Fibrin in concentrirter Kaliumnitratlösung werden Steinsalzstücke hineingestellt. Nachdem die Globulinfällung begonnen hat, werden die ausgeschiedenen und noch gelösten Albuminstoffe untersucht. Das mit KNO_3 vollständig und mit NaCl theilweise gesättigte Filtrat lässt schon bei geringem Erwärmen flockigen Niederschlag auftreten. Um Täuschungen auszuschliessen, verwende ich ausser dem gewöhnlichen einen Normalthermometer und als Wärmequelle Wasser von einer bestimmten Temperatur. Auf diese Weise stelle ich fest, dass noch bei 25° C. die salzreiche Eiweisslösung sich trübt und nach einiger Zeit Flocken abscheidet. Bei weiterem Erhitzen nimmt die Ausfällung stetig zu bis gegen 45°. Davon, dass zwischen 25 und 45° bei jeder Temperatur Albuminstoffe niedergeschlagen werden, überzeuge ich mich, nachdem der bei irgend einer zwischenliegenden Temperatur entstandene Niederschlag abfiltrirt ist. Bei erneutem Erwärmen tritt sofortige Trübung ein, wenn die frühere Temperatur erreicht ist. Zwischen 45 und 50° ist die letzte nachweisbare geringfügige Trübung. Dagegen zeigt der durch die eingesetzten Steinsalzstücke erzeugte Niederschlag, auch wenn die Ausfällung vollständig war, nach seiner Auflösung in verdünnter Kochsalzlösung erst bei ca. 50° den Beginn einer Trübung.

Es hat also durch den sehr hohen Salzgehalt der Lösung eine continuirliche Verschiebung der Temperatur statt-

gefunden, bei welcher die Eiweissstoffe ausfallen. Der oberste Gerinnungspunkt des bei 55° coagulirenden Globulins lag zwischen 45 und 50°. Unterhalb 45° wurde flockige Ausfällung bis zu einer der gewöhnlichen Zimmertemperatur naheliegenden Grenze (25° C.) beobachtet. Auch die Gerinnungstemperatur des zweiten Eiweisskörpers war erniedrigt, indem die ihn verrathende Trübung bereits bei 65° auftrat.

Aehnliche Beobachtungen sind von den verschiedensten Eiweissstoffen bekannt. Ich führe daher nur einige Beispiele an. Die Gerinnungstemperatur des Serumglobulins, welche nach Hoppe-Seyler bei 72—75° liegt, zeigt je nach dem Gehalt an Eiweiss oder Salz oder der Geschwindigkeit des Erwärmens Schwankungen zwischen 68 und 80° [Hammarsten[1])]. Wenn Hammarsten[2]) mit NaCl möglichst vollständig gesättigtes Pferdeblutserum erwärmte, so trat Trübung und Fällung regelmässig ein zwischen 30 und 40°. Der Niederschlag wurde als Paraglobulin erkannt und löste sich beim Abkühlen wieder auf. In einem Falle zeigte sich bei 17° Opalescenz und bei 18° ein sehr feinflockiger Niederschlag. Er wurde nicht untersucht, bestand aber ohne Zweifel ebenfalls aus Serumglobulin. Eine mit $MgSO_4$ unvollständig gesättigte Lösung von Serumglobulin lieferte Fredericq[3]) und Schäfer[4]) Niederschläge bei ca. 40° C. Ich führte oben an, dass der in geringer Menge aus Fibrin durch Salzwasser erhaltene Eiweisskörper nach Green zwar die Löslichkeit des Serumglobulins besitze, aber bereits bei 59—60° ausfalle. Auch die Coagulationstemperatur des hauptsächlich aus Fibrin entstehenden Eiweisskörpers wird unrichtig angegeben. Hasebroek constatirte eine Verlegung auf 58—60°. Nach Denis liegt er zwischen 60 und 65°.

Bei Albuminen wurde durch Salze hauptsäshlich eine Erhöhung des Coagulationspunktes beobachtet (Heynsius.

---

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. XVIII, 1878, S. 64.

[2]) Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. XVII, 1878, S. 425.

[3]) Arch. de Biologie, Vol. I, 1880, citirt nach Halliburton a. a. O.

[4]) Journ. of Physiology, Vol. III.

Haas u. a.). Serumalbumin[1]) gerinnt in salzfreier 1procentiger Lösung gegen 50° C. Chlornatrium erhöht die Coagulation und im Blute erfolgt Gerinnung stets über 60° und flockige Abscheidung bei 72—75°. Kauder[2]) fand bei Serumalbumin ein Schwanken der Coagulation zwischen 57 und 82° C. Sein Versuch, durch fractionirte Fällung mehrere Albumine darzustellen, misslang; er erhielt bisweilen Eiweissstoffe, von denen keiner bei so hoher Temperatur coagulirte, wie der ursprüngliche. Dass dies keine willkürliche Deutung meinerseits ist, möge der folgende Versuch mit Eieralbumin darthun.

Das mit demselben Volumen Wasser verdünnte Hühnereiweiss zeigte keine deutliche flockige Gerinnung. Nach dem Auflösen von etwas $MgSO_4$ beginnt die Coagulation bei 80° C. Als ich ausserdem eine kleine Menge NaCl zufüge, beobachte ich bei 60° eine schwache bei weiterem Erhitzen zunehmende Trübung, die bei 65° sich flockig abzuscheiden beginnt. Bei vollständiger Sättigung der Eiweisslösung mit $MgSO_4$ bei 30° bildet sich ein reichlicher Niederschlag. Nach dem Erkalten wird filtrirt. Der Niederschlag coagulirt bei ca. 75°. Das Filtrat trübt sich bei 68° und lässt bei 70° Flocken ausfallen. Wenn ich wieder $MgSO_4$ bei 30° zufüge, so tritt von Neuem Eiweissfällung ein, die nach dem Erkalten sich löst, indem $MgSO_4$ auskrystallisirt[3]). Auf diese Weise erhalte ich auch bei 50° Eiweissausscheidung.

Die Temperaturangaben des vorstehenden Versuches dürften ausreichend sein, um zu zeigen, dass die Ausfällungstemperatur von Albuminen durch Salze in derselben Weise verändert wird, wie wir es von den Globulinen gesehen haben.

Von grosser Wichtigkeit ist der Umstand, dass bei der Ausfällung der Eiweissstoffe bei höherer Temperatur Coagu-

---

[1]) Hoppe-Seyler, Handb. d. physiol.- u. path.-chem. Analyse, 1883, S. 269.

[2]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XX, 1886.

[3]) Hofmeister (Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXIV, 1888) machte bei Serumglobulin mit Dinatriumhydrosulfat eine ähnliche Beobachtung.

lation eintritt. Da aber der Punkt, bei welchem diese Umwandlung stattfindet, durch Salze nach beiden Richtungen hin verschoben werden kann, so ist man wohl berechtigt anzunehmen, dass zwischen der Ausfällung durch Salze bei niedriger Temperatur und der Veränderung des Coagulationspunktes durch dieselben enge Beziehungen vorhanden sind. Es scheint, dass durch Veränderung des Salzgehaltes[1]) der als massgebend geltende «Coagulationspunkt» bis zu einer bestimmten Grenze erst erhöht und dann allmählich erniedrigt werden kann, bis die Aussentemperatur zur Ausfällung genügt. Globuline und Albumine scheinen sich in diesem Punkte insofern zu unterscheiden, als bei letzteren am leichtesten die Erhöhung, bei den Globulinen dagegen vorzugsweise die Herabdrückung der Ausfällungstemperatur constatirt wird. Hierauf dürfte beruhen, dass man Salze zur Unterscheidung beider Gruppen von Eiweissstoffen benutzt (Hoppe-Seyler). Zu erwähnen ist hier die Beobachtung Lewith's[2]), welcher fand, dass im Blutserum das Albumin erst nach der vollständigen Abscheidung des Globulins durch Salze niedergeschlagen wird.

Diese Verhältnisse können zu Täuschungen Anlass geben. Während das von Denis aus Fibrin erhaltene Globulin, welches bei 60—65° C. gerinnt, als der bei 55° coagulirende Albuminstoff aufgefasst werden muss, da bei höherer Temperatur eine zweite Coagulation eintrat, ist bei Gautier eine Entscheidung schwieriger. Sein Albumin ist vielleicht ein Gemenge beider Globuline.

Obschon man annehmen darf, dass es eine allgemeine Eigenschaft der Salze ist, Eiweiss aus seiner Lösung auszufällen, so kommt doch den einzelnen Gliedern der Gruppe diese Fähigkeit in verschiedenem Masse zu, indem die Intensität der Eiweissfällung und die Löslichkeit ungleich sind (Hofmeister u. a). Ich glaube daher, dass, auch wenn man von den Coagulationsbestimmungen in concentrirten Salz-

---

[1]) Die Veränderung der Reaction scheint in demselben Sinne zu wirken. Siehe Halliburton, Journ. of Physiol., Vol. V, 1884.

[2]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm.. Bd. XXIV. 1887.

lösungen absieht, die oben angeführten oft wenig übereinstimmenden Angaben über die Gerinnungstemperatur derselben Eiweissstoffe wenigstens theilweise auf das benutzte Salz zurückzuführen ist. Aus den Arbeiten von Denis, Gautier, Hasebroek, Green geht mehr oder weniger sicher hervor, dass diese Untersucher Magnesiumsulfat anwendeten. Nicht minder scheint Ammoniumsulfat, dessen sich Kauder bediente, die Ausfällungstemperatur zu verändern. Sowohl Magnesiumsulfat (Denis, Hammarsten[1]) u. a.), als Ammoniumsulfat (Méhu[2]), Heynsius[3]), Kühne[4]) u. a.) sind Salze, die eine besonders intensive eiweissfällende Kraft ausüben. Während Magnesiumsulfat und Ammoniumsulfat bereits bei gewöhnlicher Temperatur und oft in verhältnissmässig geringen Mengen Eiweissstoffe ausfällen, sind von andern stärkere Concentrationen nothwendig. Durch NaCl wird Serumglobulin überhaupt nur unvollkommen ausgefällt (Hoppe-Seyler[5]), Hammarsten). Durch KNO_3, welches als Repräsentant einer dritten Gruppe betrachtet werden kann, wird der Coagulationspunkt auch nicht durch eine concentrirte Lösung besonders beeinflusst. Doch gelang es mir, durch Sättigung mit KNO_3 bei 40° intensive Globulinfällung herbeizuführen (s. o.). Auch kann bekanntlich Combination mehrerer Salze zum Ziele führen.

---

1) Diese Zeitschrift, Bd. VIII, 1884, und Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. XVII, 1878.

2) Journ. de pharm. et de chim., T. 28, 1878.

3) Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. XXXIV, 1884.

4) Jahresber. d. Thierchemie, Bd. XV, 1885, S. 32.

5) Handb. d. physiol.- u. path.-chem. Analyse, 1883, S. 276.

Ueber die Schalenhäute von Protopterus annectens.

Von

Georg Walter.

(Der Redaction zugegangen am 10. März 1889.)

Im Sommer 1887 und 1888 erhielt Herr Prof. Wiedersheim eine grössere Anzahl lebender Exemplare von Protopterus annectens, welche aus dem Gambiafluss stammten. Herr Prof. Wiedersheim hat seine Untersuchungen über diese Thiere, die bekanntlich eine Mittelstellung einnehmen zwischen den Fischen und den Amphibien, in einer Abhandlung, «Zur Biologie von Protopterus»[1]), niedergelegt, welcher ich mit der gütigen Erlaubniss des Herrn Verfassers zur Orientirung über den vorliegenden Gegenstand die folgenden Notizen entnehme.

Die ersten biologischen Mittheilungen über das hier in Frage stehende Thier stammen von Jardine[2]), welcher sich im Wesentlichen auf Beobachtungen von Miss Weir stützt. Diesen ist zu entnehmen, dass die Thiere 9 Monate lang etwa 18 Zoll tief unter dem Sumpfgrund im ausgetrockneten Schlamm eingegraben liegen, und dass sie nur 3 Monate im Wasser leben. Während dieses neunmonatlichen Erstarrungszustandes bezw. Sommerschlafes sei das Thier, zu einem ovalen Packet zusammengebogen, von einer Blätterhülle umgeben, welche von einer Schleimmasse zusammengehalten werde. Auch nach

---

[1]) Wiedersheim, «Zur Biologie von Protopterus»; Anatom. Anzeiger, Centralblatt für die gesammte wissenschaftl. Anatomie, II. Jahrgang, 1887, No. 23.

[2]) Annals and Magazine of natural history, London 1841.

Peters sollten Blätter die Hüllmasse des in Erstarrung liegenden Protopterus bilden.

Von dieser Hüllmasse bemerkt Bartelett in einer begleitenden Bemerkung zu einem von J. E. Gray verfassten Artikel im XXIII. Theil der «Proceedings of the zoological Society» von London, dass, nachdem er den «Cocoon» durch Erweichen der umgebenden Lehmmasse in Wasser erhalten habe, genau an der Stelle, wo zuvor die Nase des Thieres gelegen hatte, eine kleine Oeffnung von der Grösse eines Stecknadelkopfes wahrzunehmen gewesen sei, welche der Athmung gedient haben müsse, und erwähnt zum Schluss die in dem Lehmkloss zu dem Thier hinunterführende, in einen glattwandigen, 15—20 cm. langen Kanal übergehende Oeffnung, die er mit einem Mausloch vergleicht.

Einen exacteren Bericht über die häutigen Kapseln des Protopterus giebt — nach Wiedersheim — Krauss[1]).

«Auch er löste den Erdklumpen in warmem Wasser auf, und nachdem dies geschehen war, fanden sich auf dem Grund des Gefässes nicht etwa Blätter, sondern eine kastanienbraune Haut, in die das Thier zuvor eingehüllt gewesen sein und die sich «aus einem von ihm abgesonderten Schleim gebildet haben musste». Das deckelartige Schlussstück der Hüllmasse mass 25 Millimeter im Durchmesser und stellte eine flache, runde Scheibe dar, an welcher, fünf Millimeter vom Rand entfernt, jene kleine, auch schon von Bartelett bemerkte Oeffnung nachzuweisen war. Die übrige Haut zeigte sich so zerrissen, dass die Formverhältnisse der Hülle nicht mehr erkenntlich waren. Mit Aetzkali gekocht, nahm die dünne, durchscheinende, überall gleichförmige Haut eine hellgelbliche Färbung an und wurde noch durchscheinender, ohne sich jedoch aufzulösen. Selbst bei 240facher Vergrösserung erschien sie gänzlich structurlos und zeigte sich von vielen, zarten, verworren durch einander laufenden Rissen durchzogen, die wohl in einer Vertrocknung des Schleims ihre Ursache haben mochten.»

---

[1]) Jahresberichte des Vereins für vaterländische Naturkunde in Württemberg, Stuttgart 1864.

Seine eigenen Untersuchungen bestätigten Wiedersheim vollkommen die Richtigkeit der Krauss'schen Angaben über die Schalenhaut des Protopterus, über deren Zweck und Ursprung er sich folgendermassen ausspricht:

«Eines lässt sich übrigens jetzt schon mit Sicherheit behaupten, nämlich das, dass es sich um ein erstarrtes Secret handelt, wie auch das dicht von der Schalenhaut umschlossene Thier nach Entfernung der letzteren noch von einer hellglänzenden, spiegelnden Flüssigkeit umhüllt ist, welche an Firniss erinnert und eine sehr zähe, klebrige Consistenz besitzt. Dieser Ueberzug schützt das schlummernde Thier offenbar in ganz ähnlicher Weise vor dem Austrocknen, wie dies neuerdings durch die Herrn Sarasin von dem mit der Brutpflege beschäftigten Epicrium glutinosum bekannt geworden ist.»

«Die eigentliche harte Schalenhaut mag wohl auch theilweise diesen Zweck erfüllen, allein die Hauptaufgabe derselben scheint mir darin zu liegen, das Thier vor den mechanischen Insulten der während der Austrocknung immer mehr sich contrahirenden Schlammmassen zu schützen.»

«Woher das schleimige Secret stammt, ob aus der Haut oder aus einem besonderen Apparat, wie ein solcher bei Ceratodus, wo er am Kieferwinkel nach aussen mündet, nachgewiesen ist, müssen künftige Untersuchungen lehren.»

In einer neueren, im anatomischen Institut zu Freiburg ausgeführten Untersuchung über den Protopterus schliesst sich W. N. Parker[1]) bezüglich der Auffassung der Schalen der von Wiedersheim ausgesprochenen Ansicht an und bezeichnet sie direct als ein erstarrtes Hautsecret.

Das zu den folgenden Untersuchungen benützte seltene Material erhielt ich durch Vermittelung des Herrn Prof. Baumann von Herrn Prof. Wiedersheim, welchem ich hierfür, sowie für die Anregung zu den folgenden Untersuchungen meinen lebhaften Dank ausspreche.

---

[1]) W. N. Parker, Zur Anatomie und Physiologie von Protopterus annecteus, Berichte der naturforschenden Gesellschaft zu Freiburg i. B. 1888.

Beschreibung der Schalenhaut.

Die Gesammtmenge der mir zur Verfügung gestellten Kapseln betrug 12 Gramm. Aus den zerrissenen und zerstückten Häuten, unter welchen sich keine der von Krauss beschriebenen Schlussdeckel befanden, liess sich weder die ursprüngliche Form erkennen, noch das Gewicht der einzelnen Kapseln feststellen.

Die Kapselstücke zeigten sich auf der dem Substrat zugewendeten Seite — die ich der kürzeren Ausdrucksweise halber als die äussere, die dem Fisch anliegende Seite als die innere benennen will — mit Sand inkrustirt und übersponnen von einem Gewirr zahlreicher, der Haut zum Theil sehr fest angepresster, feinerer und dickerer Wurzelfasern, welche jedenfalls durch die beim Austrocknen sich zusammenziehenden Schlammmassen der noch zarten und geschmeidigen Haut eingedrückt wurden und der Innenfläche der Schalen ein genervtes Aussehen verliehen, was wohl bei oberflächlicher Betrachtung die irrige Vorstellung von einer aus Blättern und Schleim fabricirten Hülle wachgerufen haben mochte. Die Kapseln wurden zunächst durch Aufweichen in kaltem Wasser, Abpinseln mit einem nicht zu feinen Haarpinsel oder noch besser durch gelindes Abreiben mit dem Finger und wiederholtes Abspülen mit Wasser gereinigt und erscheinen nun als durchscheinende, braungelbe, äusserst dünne, getrocknet spröde und pulverisirbare, auf der Aussenseite matte oder schwach glänzende, auf der Innenseite fettglänzende Membranen. Beim Erhitzen auf dem Platinblech verbrannten die Stücke unter Verbreitung eines Geruches nach verbranntem Harn und unter Hinterlassung von reichlich Asche. Vorsichtig erhitzt behielt die Asche die ursprüngliche Form der Substanz bei, wobei sich die Innenseite des veraschten Kapselstückchens rein weiss, die andere rostfarbig zeigte, ein Hinweis darauf, dass die Schalen nicht aus einer homogenen Masse bestehen konnten. Die Löslichkeitsversuche in Wasser, Alkohol und Aether verliefen negativ. Bei der Behandlung mit verdünnter Salzsäure entstand eine schwach gelb gefärbte

Lösung, an der aber nicht organische Verbindungen, sondern Eisen- und Kalksalze sich betheiligten. Gleichzeitig fand eine lebhafte Kohlensäureentwickelung statt. Auffallender Weise bildeten sich die Gasbläschen nur an der inneren Seite der Kapselstücke. Mit Natronlauge längere Zeit erhitzt, lösten sie sich zu einer braunen, etwas getrübten Flüssigkeit, indem sie allmälig dünner und durchsichtiger wurden, als zarte Schleier in der Flüssigkeit flottirten und endlich verschwanden. Mässig conc. Schwefelsäure löste die anfangs aufquellenden Häute zu einer braunschwarzen Flüssigkeit auf.

Bei der mikroskopischen Flächenbetrachtung erschien — wie schon Krauss berichtete — die Haut von vielen zarten, verworren durch einander laufenden Rissen durchzogen und anscheinend structurlos. Durch Quer- und Flächenschnitte wurde ich eines Besseren belehrt.

Die ausserordentliche Zartheit und Sprödigkeit der Schalen erschwerten das Schneiden in hohem Grade. Um dennoch zum Ziel zu gelangen, verfuhr ich in der Weise, dass ich eine Anzahl in Wasser geweichter Hautstücke über einander legte, nach Art der Cigarren fest aufrollte und schnitt. Allerdings bestand der weitaus grösste Theil der so hergestellten Schnitte blos aus schmalen Hautstreifen; aber dazwischen fanden sich doch auch einzelne gute Querschnitte und in Folge Ausgleitens des Messers an dem nachgiebigen Material dann und wann mehr oder weniger vollkommene Flächenschnitte. An den Querschnitten, deren Ränder nicht scharf begrenzt waren, liessen sich zwei deutlich von einander abgegrenzte Schichten von annähernd derselben Stärke unterscheiden: eine rothbraun gefärbte, mit zahlreichen eingelagerten, ungleichförmig gestalteten Körperchen (Sandpartikeln), und eine — wenigstens auf dünnen Querschnitten — farblos erscheinende Schicht, die sich an den Enden der Schnitte häufig von einander losgelöst hatten. Die Messung der Querschnitte ergab für die Kapseln eine durchschnittliche Dicke von 47—57 μ. Auch an Flächenschnitten liessen sich die beiden Zonen leicht erkennen; während aber die braun gefärbte ausser den eingelagerten, bald feineren, bald gröberen

Partikeln nichts Auffallendes bot, zeichnete sich die farblose durch starre Formen und zahlreiche kurze, scharfe, zu einer Art Netz sich vereinigende Risse aus, die — um ein triviales Beispiel zu gebrauchen — etwa das Bild einer flachgedrückten Eierschale boten, deren Splitter noch durch die zarte, die Innenseite derselben auskleidende Haut zu einem Ganzen vereinigt bleiben. Diese Risse verschwanden aber sofort unter Gasentwickelung bei der Einwirkung von verdünnter Salzsäure, die Membranen nahmen weiche, schleierhafte Formen an und hatten das Aussehen einer schaumigen Masse. Auf Querschnitten konnte man jetzt eine undeutliche Schichtung erkennen. Ich glaube daher nicht irre zu gehen, wenn ich die Starrheit der farblosen Membranenschichte auf grosse, die organische Grundmasse durchsetzende Mengen von kohlensaurem, phosphorsaurem und vielleicht auch schwefelsaurem Kalke, die — wie die Aschenanalyse zeigen wird — von dem Thier in nicht unbeträchtlicher Quantität ausgeschieden werden, zurückführe und die durch die auflösende Wirkung der Säure die Risse verschwinden liessen. Nach dem Auswaschen der Schnitte versuchte ich auch Tinctionen mit Anilinfarben. Mit Smaragdgrün färbten sich die farblosen Schichten intensiv grün; aber auch der braune Kapseltheil zeigte an den durchsichtigeren Stellen eine mehr oder weniger starke Farbstoffspeicherung, so dass man daraus schliessen darf, dass auch seine Grundmasse aus Eiweissstoffen (und dafür spricht die kräftige Farbstoffspeicherung) bestehe.

Chemische Untersuchung der Schalenhäute.

Dieselbe zerfiel in eine Untersuchung der Asche und in eine solche der organischen Bestandtheile der Kapseln, auf welche jeweils 6 Gramm Substanz entfielen. Letztere wurde vorerst in der oben beschriebenen Art sorgfältig gereinigt, bei 70° C. getrocknet und gepulvert.

Die die Substanz betreffenden Gewichtszahlen beziehen sich stets auf die lufttrockenen, bei 70° C. getrockneten Schalenhäute.

A. Wasserbestimmung.

Die Wasserbestimmung ergab für die lufttrockene Substanz 6,88 % Wasser.

B. Analyse der Asche.

Die Kohlensäure der Aschen wurde nach dem Glühen durch Erhitzen mit Ammoniumcarbonat restituirt.

I. 0,3915	gr.	Substanz gaben	0,1095	gr.	Asche	= 27,951 %.
II. 0,6065	»	»	0,1705	»	»	= 28,114 »
III. 0,612	»	»	0,173	»	»	= 28,265 »

Der Aschengehalt der lufttrockenen Häute betrug im Mittel 28,165 %.

Die qualitative Aschenanalyse ergab die Bestandtheile: Eisen, Aluminium, Calcium, Kalium, Natrium, Kieselsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Kohlensäure und Spuren von Chlor und Magnesium.

Zur Ausführung der quantitativen Aschenanalyse wurden die Silicate mit Salzsäure aufgeschlossen, die überschüssige Säure verdampft, mit verd. Salpetersäure aufgenommen, die Kieselsäure abfiltrirt und die Phosphorsäure mit Ammoniummolybdat ausgefällt. Eisen und Aluminium wurden in der üblichen Weise abgeschieden, mit reiner Natronlauge getrennt und Calcium als Oxalat gefällt. Aus einer ersten Portion ergaben sich die Werthe:

0,173 gr. Asche gaben	0,062	gr.	SiO_2	= 35,838 %.
	0,007105	»	P_2O_5	= 4,107 »
	0,0170	»	Fe_2O_3	= 9,826 »
	0,0095	»	Al_2O_3	= 5,491 »
	0,0625	»	CaO	= 36,127 »

In einer zweiten Portion Asche wurde wieder erst die Kieselsäure abgeschieden, aus der sauren Lösung die Schwefelsäure mit Chlorbaryum gefällt, Eisen, Aluminium, Calcium und das überschüssige Baryum mit Ammoniak und Ammoncarbonat entfernt und die Alkalien als Sulfate gewogen. Nachdem das Kalium als Kaliumplatinchlorid bestimmt worden war, liess sich durch Umrechnung des Kaliums auf Sulfat auch das Gewicht des Natriums ermitteln.

0,648 gr. Asche gaben	0,0234 gr.	SO_3	= 3,614 %.
	0,031 »	($x K_2SO_4 + x Na_2SO_4$).	
	0,028 »	$PtCl_6K_2$.	
	0,0054 »	K_2O	= 0,836 %.
	0,00916 »	Na_2O	= 1,415 %.

In einer dritten Portion endlich wurde das Gewicht der Kohlensäure nach dem von Kolbe angegebenen, von Fresenius verbesserten Verfahren durch directe Wägung festgestellt.

0,4635 gr. Asche gaben 0,0100 gr. CO_2 = 2,157 %.

Chlor und Magnesium waren in quantitativ nicht zu ermittelnden Mengen vorhanden.

Zusammenstellung:

Fe_2O_3	= 9,826 %	15,317 %.
Al_2O_3	= 5,491 »	
CaO	= 36,127 »	
Ka_2O	= 0,836 »	
Na_2O	= 1,415 »	
SiO_2	= 35,838 »	
P_2O_5	= 4,107 »	
SO_3	= 3,614 »	
CO_2	= 2,157 »	
Mg, Cl	= — »	
	99,411.	

C. Analyse der organischen Bestandtheile.

Die Stickstoffbestimmung wurde nach der Dumas'schen Verbrennungsmethode ausgeführt und ergab aus

0,6290 gr. Substanz = 0,0599 gr. N = 9,523 %,

für die aschenfreie Substanz berechnet 13,228 % N.

Prüfung auf Eiweissstoffe.

Die Untersuchung der organischen Bestandtheile oder Schalenhäute war zunächst auf den Nachweis von Eiweissstoffen gerichtet. Nach dem von Hoppe-Seyler[1]) angegebenen Verfahren zur Darstellung von Leucin und Tyrosin

[1]) Hoppe-Seyler, Handbuch der Physiologisch- und Pathologisch-Chemischen Analyse, S. 173.

aus Hornspänen wurden 3 Gramm Substanz mit 40 Gramm im Verhältniss von 5 : 13 verdünnter Schwefelsäure 24 Stunden lang in einem Kolben mit aufgesetztem Liebig'schen Kühler in schwachem Sieden erhalten, die braunschwarze Lösung mit überschüssigem kohlensauren Kalk abgestumpft, der Kalkbrei mit $^1/_2$ Liter Wasser abgekocht, auf ca. 5 cbcm. eingedampft und in einem Uhrglas zur Krystallisirten abdunsten gelassen. Nach 24 Stunden liessen sich in der gelbgefärbten, syrupösen Flüssigkeit neben einzelnen Krystallen nur undeutlich krystallinische Massen erkennen. Zur weiteren Reinigung wurde die süsslich fleischextractähnlich schmeckende Masse wieder gelöst, mit Barytwasser so lange versetzt, als ein Niederschlag entstand, das überschüssige Barythydrat mit Kohlensäure gefällt, filtrirt, eingeengt und nochmals in einem Uhrglas der Krystallisation überlassen. Durch Abspülen mit verdünnter Essigsäure und Wasser wurden die ausgeschiedenen Krystalle von beigemengten Spuren kohlensauren Baryts und den Resten der gelblichen Mutterlauge vollends gereinigt. Die Ausbeute an diesen Krystallen war klein, aber genügend, um sie als Tyrosin nachweisen zu können. Sie bildeten nadelförmige Krystalle, waren in Wasser schwer, in Ammoniak sehr leicht löslich und lieferten in Millon's Reagens eine ebenso intensiv rothe Färbung, als eine in einer Vergleichsprobe benutzte gleich grosse Menge reinen Tyrosins. Das neben Tyrosin bei der Zersetzung von Eiweissstoffen stets gleichzeitig auftretende Leucin konnte in Folge der geringen Menge, in welcher es entstanden sein musste, und seiner Leichtlöslichkeit im Wasser nicht in reinem Zustand abgeschieden werden und blieb in der Mutterlauge des Tyrosins gelöst. Da auch der gefundene Stickstoffgehalt demjenigen der Albumine entspricht, so war die Anwesenheit von Eiweisskörpern erwiesen.

Schon oben wurde bemerkt, dass die Schalenhaut an Wasser keine löslichen Stoffe abgab. Trotzdem wurde der Versuch gemacht, in derselben auf das Vorhandensein von diastatischem Ferment zu prüfen. Das Resultat war ein negatives. Veranlassung zu diesem Versuch gab die Beobachtung, dass die

intacten Schalenhäute beim Uebergiessen mit Wasserstoffsuperoxyd eine sehr bemerkliche Sauerstoffentwickelung lieferten. Hierbei wurde auch constatirt, dass diese Sauerstoffentwickelung lediglich von der Innenfläche der Schalenhaut ausging,. während aus der dem Schlamm zugekehrten Fläche sich keine einzige Gasblase entwickelte.

Untersuchung des Flussschlammes.

Der grosse Aschengehalt der Kapseln, insbesondere aber das Vorhandensein so beträchtlicher Mengen von Kieselsäure, Eisen und Thonerde, die mit dem Stoffwechsel des Thieres nichts zu thun haben, wiesen unmittelbar auf eine Theilnahme des Flussschlamms an der Bildung der Schalenhäute hin und forderten eine chemische Untersuchung des letzteren. Zur Ausführung derselben wurde eine hinreichende Quantität des Bodens der Wandung einer der Fischhöhlen entnommen, zerrieben, durch Absieben von den beigemengten Pflanzentheilen befreit und bei 100° C. getrocknet.

Der Gehalt des Bodens an organischen (Humus) Bestandtheilen wurde indirect durch Veraschung bestimmt.

	Boden (lufttrocken):	Gewichtsverlust:	
I.	2,446 gr.	0,331 gr.	= 13,205 %.
II.	2,034 gr.	0,261 gr.	= 12,830 %.

Demnach beträgt die Humussubstanz des Flussschlamms im Mittel 13,017 %.

Analyse der Bodenasche.

In Bezug auf qualitative Beschaffenheit stimmte die Bodenasche mit der Hautasche vollkommen überein, nur liessen sich in jener noch Spuren von Mangan durch die Manganschmelze nachweisen. Hingegen zeigten sich in der quantitativen Zusammensetzung erhebliche Differenzen.

Der Gang der quantitativen Analyse war im Allgemeinen derselbe wie bei der Hautaschenanalyse. Die geglühte, im Achatmörser auf's Feinste abgeriebene Asche wurde zur Restituirung der Kohlensäure mit Ammoncarbonat erhitzt, mit

verdünnter Salzsäure ausgezogen, die Silicate durch Schmelzen mit kohlensaurem Natronkali aufgeschlossen und nach Ausfällen der Phosphorsäure mit Ammoniummolybdat im Uebrigen wie oben verfahren.

In einer ersten Portion wurden bestimmt:

1,018 gr. Bodenasche ergaben	0,635 gr.	SiO_2	=	62,370 %.
	0,2865 »	Fe_2O_3 / Al_2O_3	=	28,099 »
	0,0478 »	CaO	=	4,693 »
	0,623 »	MgO	=	2,246 »
	0,00703 »	P_2O_5	=	0,690 »

In einer zweiten Portion wurde der Gehalt an Schwefelsäure ermittelt.

1,101 gr. Bodenasche gaben 0,00274 gr. SO_3 = 0,249 %.

In zwei weiteren Aschenmengen wurde nach der Kolbe-Fresenius'schen Methode die Kohlensäure bestimmt.

I. 1,6197 gr. Bodenasche gaben 0,0030 gr. CO_2 = 0,185 %.
II. 2,4908 » » » 0,0042 » » = 0,168 »

Zusammenstellung:

Fe_2O_3 / Al_2O_3	28,099 %.
CaO	4,693 »
MgO	2,246 »
SiO_2	62,370 »
P_2O_5	0,690 »
SO_3	0,249 »
CO_2	0,185 »
K, Na, Cl	— »
	98,532.

Die chemische Untersuchung bestätigte somit die von Wiedersheim und Parker ausgesprochene Ansicht, dass die Schalenhaut aus dem Secret der Hautschleimdrüsen resp. der Becherzellen gebildet worden ist. Dieses Secret besteht aus Eiweissstoffen (Mucin) und anorganischen Salzen, unter welchen Calciumcarbonat den Hauptbestandtheil ausmacht. Die in der Schalenasche gefundenen Mengen von Phosphorsäure und von Alkalien gehören gleichfalls diesem Secret an. Die im Secret gefundene Schwefelsäure ist jedenfalls zum

grösseren Theil auf Kosten des Schwefelgehaltes der Eiweissstoffe (Mucin) in Rechnung zu bringen. Ein besonderer Versuch zeigte, dass von schwefelsauren Salzen in den Kapseln selbst nur geringe Mengen enthalten sind.

Der Kohlensäuregehalt der Asche erscheint sehr gering im Verhältniss zum Kalkgehalt derselben. Hierbei ist zu beachten, dass nicht blos durch die bei der Veraschung gebildete Schwefelsäure, sondern auch durch die reichlich vorhandene Kieselsäure bei der Anfertigung der Asche Kohlensäure ausgetrieben wurde.

Die chemische Untersuchung zeigt aber auch auf das Deutlichste, dass bei der Bildung der Schalenhaut des Protopterus die umgebende Schlammmasse auch einen Theil des Materials geliefert hat. Vergleicht man nämlich das Verhältniss von Eisen und Thonerde mit dem Kieselsäuregehalt der Kapselasche (15,3 $Fe_2O_3 + Al_2O_3$: 35,8 SiO_2) mit dem Verhältniss, in welchem diese Substanzen im Flussschlamm enthalten sind (28,09 $Fe_2O_3 + Al_2O_3$: 62,37 SiO_2), so ergiebt sich eine fast vollständige Uebereinstimmung.

Wenn man die sämmtlichen, bei der chemischen und mikroskopischen Untersuchung gewonnenen Resultate zusammenfasst, nämlich

1. das verschiedenartige Aussehen der beiden Flächen eines veraschten Kapseltückchens,
2. die Beobachtung, dass beim Uebergiessen mit Salzsäure sich nur an der Innenfläche der Schalenhäute Kohlensäure entwickelte,
3. das ähnliche Verhalten gegen Wasserstoffsuperoxyd,
4. die Verhältnisse in der procentischen Zusammensetzung von Schalenhaut- und Bodenasche, und
5. die mikroskopischen Befunde,

so erkennt man, dass die Natur dieser interessanten Hüllen des Protopterus keine einheitliche ist, deren Entstehung man sich wohl durch die Annahme vorstellen kann, dass sich das

Thier zur Zeit, wo es sich zu seinem Sommerschlaf anschickt, mit einem an Kalksalzen und Eiweissstoffen reichen, schleimigen Secret überdeckt, das, bis zu einer äusserst geringen Tiefe das Erdreich durchdringend, mit dessen feinsten Partikeln verklebt und mit der zunehmenden Austrocknung des Flussschlammes zu den beschriebenen häutigen Kapseln verhärtet.

Universitätslaboratorium (Prof. Baumann) Freiburg i. B.

Beiträge zur Kenntniss der Eigenschaften der Blutfarbstoffe.

Von

F. Hoppe-Seyler.

Die rothen Blutkörperchen der Säugethiere unterscheiden sich von andern Zellen durch einen auffallend hohen Gehalt an festen Stoffen, und die feste organische Substanz derselben wird abweichend von allen übrigen Zellen, wenn nicht ganz allein, doch zum bei Weitem grössten Theil aus Blutfarbstoff gebildet. Aller Wahrscheinlichkeit nach ist der Farbstoff nicht, wie man gewöhnlich annimmt, dem Protoplasma beigemengt, sondern stellt selbst das Protoplasma dar. Zerlegt man andere Zellen, so erhält man ausser Cholesterin, Lecithin und Kaliumphosphat Eiweisskörper, aus den rothen Blutkörperchen dagegen Oxyhämoglobin (resp. Hämoglobin), Cholesterin, Lecithin, Kaliumphosphat neben verschwindend geringer Quantität von Albuminstoff.

Während wir an den bewegungsfähigen Protoplasmen physikalische und chemische Aenderungen insofern nachzuweisen vermögen, als wir Aenderungen der Formen, des Wassergehaltes und der Consistenz beobachten, welche unter Aufnahme von Sauerstoff und Abscheidung von Kohlensäure erfolgen, lassen die rothen Blutkörperchen keine amöboide Aenderung der Formen erkennen; über Aenderungen der Consistenz und des Wassergehaltes sind wir nicht unterrichtet, nur die Aenderung des Sauerstoffgehaltes durch Aufnahme und Wiederabgabe von indifferentem Sauerstoff und gleichzeitig, abhängig hiervon, sehr characteristischer Aenderung der Lichtabsorptionen sind bekannt.

Es kann nicht zweifelhaft sein, dass die Wasserattraction der venösen Blutkörperchen verschieden ist von derjenigen der arteriellen. Es wird also bei dem Uebergang des venösen Blutes in den Lungencapillaren in das arterielle Blut entweder Wasser aus den Blutkörperchen in das Plasma übertreten, beim Uebergang des arteriellen Blutes in das venöse in den übrigen Capillaren des Organismus der umgekehrte Process stattfinden, oder es könnte sich auch umgekehrt verhalten, wenn nicht etwa der in der Lunge gleichfalls stattfindende Process der Abscheidung von CO_2 in die Lungenluft eine Aenderung dieser Processe herbeiführt, die vielleicht compensirend eintritt. Untersuchungen in diesen Richtungen fehlen meines Wissens noch, nur könnte man hierauf die Resultate der Messungen von Manasseïn[1]) beziehen, nach welchen durch Einwirkung von Sauerstoff die Dimensionen der Blutkörperchen vergrössert, durch die Einwirkung von CO_2 dagegen verkleinert werden.

Schon vor längerer Zeit habe ich auf die Nothwendigkeit aufmerksam gemacht, die arteriellen Blutfarbstoffe von ihren Spaltungsproducten, den Oxyhämoglobinen, und die venösen Blutfarbstoffe von den Hämoglobinen zu unterscheiden[2]). Zu den damals bekannten Unterschieden sind seitdem einige weitere hinzugekommen. Die Farbstoffe in den rothen Blutkörperchen sind ebenso wie die Protoplasmen unlöslich in Blutplasma oder Serum oder nicht allzu verdünnten neutralen Salzlösungen. Sie krystallisiren nicht, geben an das Vacuum der Quecksilberluftpumpe den locker gebundenen Sauerstoff leicht ab, zerlegen schnell Wasserstoffhyperoxyd unter Entwickelung von indifferentem Sauerstoff, ohne dabei selbst verändert zu werden. Eine verdünnte wässrige Lösung von Ferricyankalium lässt die Blutkörperchen längere Zeit unzersetzt[3]). Die Oxyhämoglobine hingegen sind löslich in Plasma, sowie in neutralen Salzlösungen, krystallisiren mehr oder weniger leicht, je nach der Thierspecies, von der das Blut

[1]) W. Manasseïn, Centralbl. f. d. med. Wiss., 1871, No. 44.
[2]) F. Hoppe-Seyler, Physiologische Chemie, III, S. 380, 1879.
[3]) v. Mering, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. VIII, S. 186, 1883.

entnommen ist, zerlegen, wenn gut gereinigt, das Wasserstoffhyperoxyd kaum unter O_2-Entwickelung[1]) und werden dabei selbst zersetzt unter Oxydation, werden ferner durch Zusatz selbst sehr verdünnter Ferricyankaliumlösung schnell zu Methämoglobin umgewandelt und geben an das Vacuum der Quecksilberluftpumpe schwierig und kaum vollständig den sog. locker gebundenen Sauerstoff ab.

Durch Aether, Chloroform, Alkohol, wässrige Lösung gallensaurer Salze, weniger vollkommen durch Wasser werden die Farbstoffe der rothen Blutkörperchen zerlegt unter Bildung von Oxyhämoglobin neben Cholesterin und Lecithin, welche letztere in Aether, Chloroform u. s. w. übergehn. Das Lecithin wird durch Ausschütteln der Blutkörperchen mit Aether nie vollständig ausgezogen; bei der nachherigen Behandlung mit warmem Alkohol wird der Rest extrahirt.

Es lässt sich das geschilderte Verhalten der rothen Blutkörperchen nicht wohl anders erklären, als dass im Protoplasma derselben eine Verbindung von Oxyhämoglobin mit Lecithin vorhanden ist, die ebenso wie die Lecithinverbindungen mit Vitellin im Eidotter[2]), mit andern Stoffen im Protagon des Nervenmark[3]), und in zahlreichen Pflanzensamen[4]) durch Aether nur theilweise, durch heissen Alkohol vollständig zerlegt werden. Cholesterin wird durch Aether vollständig extrahirt, ob es in diesen Protoplasmenverbindungen auch enthalten und durch Aether völlig abgespalten wird, lässt sich bis jetzt nicht entscheiden.

Die Atomgruppe, welche im Oxyhämoglobin die Function der lockeren Bindung des Sauerstoffmoleküls besitzt, wird bei der Zersetzung der Blutkörperchen nicht verändert. Es wird dies mit voller Sicherheit bewiesen durch die Uebereinstimmung der Lichtabsorptionen im Spectrum sowohl für

---

[1]) P. Bergengruen, Ueber die Wechselwirkung zwischen Wasserstoffsuperoxyd u. verschied. Protoplasmaformen. Diss., Dorpat 1888.

[2]) F. Hoppe-Seyler, Med. chem. Untersuch., II, S. 215, 1868.

[3]) F. Hoppe-Seyler, Physiologische Chemie, IV, S. 677, 1881.

[4]) E. Schulze und E. Steiger, Zeitschr. f. physiolog. Chem., Bd. XIII, S. 365, 1889.

den arteriellen Blutfarbstoff und das Oxyhämoglobin, als auch für die venösen Blutkörperchen und das Hämoglobin. Im Blute, wie es circulirt, ebenso in den wässrigen Lösungen der krystallisirten Oxyhämoglobine und Hämoglobine entsprechen bestimmte Spectralabsorptionen dem Anhaften sowie dem Fehlen des locker gebundenen Sauerstoffmoleküls. Es würde aber durchaus unrichtig sein, wenn man aus dieser Uebereinstimmung einen Beweis herleiten wollte, dass die krystallisirbaren Oxyhämoglobine und Hämoglobine als solche unverbunden mit andern Atomgruppen in den circulirenden Blutkörperchen des lebenden Organismus enthalten seien.

Soweit bis jetzt die Untersuchungen Entscheidung gebracht haben, hängen scharf bestimmbare Lichtemissionen und Absorptionen stets ab von Atomen oder Atomgruppen, nie oder nur ganz untergeordnet von den ganzen Molekülen. Hinsichtlich der Verbindungen von Kalium, Natrium, Thallium, Indium, Cäsium, Rubidium u. s. w. zweifelt hieran wohl Niemand; in organischen Körpern können nur Gruppen von Atomen diese Einwirkung haben sowohl bezüglich der Emissionen (Fluorescenz) als auch der Absorptionen.

Es ist eine bekannte Thatsache, dass die procentische Zusammensetzung der Oxyhämoglobine der Blutarten verschiedener Thierspecies ebenso wie der Krystallwassergehalt, Krystallform, Löslichkeit in Wasser verschieden sein können, während die Einwirkung auf das Spectrum für alle Oxyhämoglobine übereinstimmt. Es kann hiernach nicht auffallen, dass bei der Abspaltung des Oxyhämoglobin aus seiner Verbindung in den rothen Blutkörperchen eine Aenderung der Lichtabsorptienserscheinungen nicht erfolgt. Der bekannte characteristische Absorptionsstreifen im Roth zwischen den Linien B und C, welchen das Chlorophyll der lebenden Pflanze im Spectrum hervorruft, bleibt ungeändert, wenn der Farbstoff mit Alkohol extrahirt ist; auch nach der Darstellung des Chlorophyllan und seiner Verseifung mit siedender alkoholischer Kalilauge, Ausfällen der Chlorophyllansäure und ihrer Isolirung durch Aether und Essigsäure überdauert alle diese chemischen eingreifenden Umwandlungen die charac-

teristische Spectralerscheinung. Die chemischen Eingriffe bei der Umwandlung des Chlorophyll sind viel tiefere als diejenigen der Abspaltung des Oxyhämoglobin aus dem Protoplasma der rothen Blutkörperchen, aber die Unveränderlichkeit der Chlorophyllabsorptionen im Roth scheint vielleicht nicht so wunderbar, weil sie nicht so leichter Umwandlung fähig ist, wie die des Oxyhämoglobins und des rothen Protoplasma der Blutkörperchen bei der Aenderung der Sauerstofftension. Macht man die letztere = 0 durch längeres Durchleiten von reinem Wasserstoffgas, so werden die characteristischen Absorptionen des arteriellen Blutfarbstoff und des Oxyhämoglobin umgewandelt in diejenigen des venösen Farbstoffs in den Blutkörperchen und ebenso seines Spaltungsproductes, des Hämoglobin.

Leichte Umwandlung der Lichtabsorptionen chemischer Körper durch geringe Oxydation oder Reduction, durch Einwirkung von Säure oder Alkalien ohne eingreifende Aenderung der chemischen Structur der Moleküle lässt sich an zahlreichen Beispielen in der Chemie der organischen Farbstoffe demonstriren, bei vielen Körpern kann man auch nachweisen, dass eine sehr oberflächliche Aenderung einer Atomgruppe stattfindet, während die ganzen Absorptionen hervorgerufen werden oder verschwinden. Eine Umwandlung jedoch, welche sich derjenigen des Oxyhämoglobin in Hämoglobin und umgekehrt an die Seite stellen lässt, ist bei andern Farbstoffen bis jetzt nicht bekannt geworden. Hypothesen über die chemische Structur der das Sauerstoffmolekül bindenden Atomgruppe sind sonach noch unmöglich, nur steht durch die Erfahrung fest, dass das locker gebundene Sauerstoffmolekül durch die fast gleich schweren Moleküle CO und NO substituirt werden kann ohne wesentliche Aenderung in den Absorptionserscheinungen. Je grösser die Masse des locker gebundenen Moleküls, desto weiter nach dem Roth hin werden die Absorptionsstreifen verschoben.

Spaltet man das Hämoglobin durch Einwirkung von Alkalilauge in Hämochromogen und Albuminat, so bleibt bekanntlich die hauptsächlichste Lichtabsorption, welche die Hämoglobinlösungen zeigen, mitten zwischen den Linien

D und E im Sonnenspectrum im Hämochromogen nicht allein bestehn, sondern wird noch stärker und auf engeren Raum beschränkt, zugleich tritt aber noch ein schwächerer Absorptionsstreifen bei E und b auf, welcher den Hämoglobinlösungen ganz zu fehlen scheint. Bei dieser Spaltung des Hämoglobins büsst das farbige Spaltungsstück seine Beständigkeit ein und wird bei Sauerstoffzutritt schnell umgewandelt in Hämatin, dessen chemische Structur zwar von der des Hämochromogen nicht weit abweicht, dessen Lichtabsorptionen aber ganz abweichende sind, und in dem die interessante Atomgruppe, welche O_2 oder CO oder NO locker zu binden vermag, nicht unverändert enthalten ist.

Wegen der grossen Empfindlichkeit des Hämochromogen gegen den indifferenten Sauerstoff der Luft und wegen seiner leichten Wandelbarkeit unter dem Einfluss von Säuren, durch welche es unter Austritt des Eisens tiefe Zersetzung erfährt, ist die Kenntniss dieses merkwürdigen Farbstoffs bis jetzt noch eine sehr mangelhafte geblieben. Eingehendere Untersuchungen der Kohlenoxydverbindungen des Blutfarbstoff ergaben hier werthvolle Aufschlüsse.

Schon im Anfang des Jahres 1857 hatte ich mich überzeugt[1]), dass das mit CO behandelte Blut im Vacuum der Luftpumpe dies Gas viel fester gebunden hält als den Sauerstoff, aber ein Strom von Wasserstoffgas treibt es langsam heraus[2]) und bei beharrlich fortgesetztem Auspumpen mit der Quecksilberpumpe[3]) gelingt es unter gleichzeitiger Anwendung starker Temperaturerhöhung quantitativ das CO aus dem Blute zu entwickeln.

Aus den Lösungen der Krystalle des Kohlenoxydhämoglobin in Wasser ist schwieriger das CO zu entfernen, als aus den mit CO behandelten Blutkörperchen. Die Krystalle dieser Verbindung selbst gaben mir trocken beim Erhitzen im Vacuum kein Kohlenoxydgas. Die feuchten Krystalle gaben nur einen kleinen Theil von CO ab (für 100 gr. trockene

[1]) Virchow's Archiv, Bd. XI, S. 288, März 1857.
[2]) Donders, Pflüger's Archiv, Bd. V, S. 24, 1872.
[3]) Zuntz, Pflüger's Arch., Bd. V, S. 584, 1872.

CO-Hämoglobinkrystalle wurden nur 13,4 cbcm. CO-Gas für 0° und 760 mm. Dr. berechnet erhalten, während 167 cbcm. darin angenommen werden dürfte). Dennoch glaubte ich nach meinen Versuchen schliessen zu müssen[1]), dass durch Erhitzen im Vacuum aus den Kohlenoxydhämoglobinlösungen der ganze CO-Gehalt wiedererhalten werden könnte, aber ungleich schwieriger als aus dem Oxyhämoglobin der lose gebundene Sauerstoff. Diese Ansicht wurde durch meine späteren Versuche bestätigt.

Leitet man durch eine hinreichend verdünnte wässrige Lösung von krystallisirtem CO-Hämoglobin einen Strom von Wasserstoffgas ohne Unterbrechung 5 bis 6 Stunden lang hindurch, so ist das Kohlenoxyd noch nicht vom Hämoglobin abgetrennt, wenn der Versuch bei gewöhnlicher Temperatur ausgeführt wird, bei hinreichend erhöhter Temperatur gelingt es aber, das Kohlenoxyd auszutreiben. Aus Oxyhämoglobin wird der lose gebundene Sauerstoff durch den Wasserstoffstrom bei 15° binnen 1 bis 2 Stunden vollständig entfernt.

Da hier öfter von der Anwendung des Wasserstoffstromes die Rede ist, erwähne ich gleich jetzt, dass in allen Versuchen die Anordnung der Apparate entweder die früher von mir beschriebene[2]) und abgebildete ist, oder das Gas im verbesserten Kipp'schen Apparate entwickelt wird und zunächst durch eine mit Wasser theilweise gefüllte Waschflasche, dann durch ein gerades, horizontal gerichtetes Glasrohr geht, welches aussen mit Thon beschlagen ist. Sobald angenommen werden darf, dass die Apparate bereits mit ziemlich reinem Wasserstoffgas gefüllt sind, wird das mit Thon beschlagene Rohr in der Mitte durch einen Bunsen'schen Brenner erhitzt und so lange im Glühen erhalten, als der Wasserstoffstrom in Anwendung bleibt. Durch diese Einwirkung der Glühhitze werden Spuren von Sauerstoff entfernt, welche auch bei sehr lange dauernder Wasserstoffentwickelung im Kipp'schen Apparate dem entwickelten Gas beigemengt bleiben. Die

---

[1]) Hoppe-Seyler, Medic. chemische Untersuchungen, II. Heft, S. 202, 1868.

[2]) Hoppe-Seyler, Medic. chem. Untersuch., Heft IV, S. 541.

an der citirten Stelle beschriebenen und abgebildeten doppelt S-förmigen Röhren habe ich auch bei den obigen und verschiedenen später zu beschreibenden Versuchen mit Vortheil verwendet.

Da man fürchten konnte, dass bei dem Leiten des Wasserstoffgas durch das theilweise glühende Rohr etwaige Verunreinigungen des Gases mit etwas Kohlensäure und Kohlenwasserstoffe, welche bei der Lösung des Zink in der Salzsäure entwickelt werden könnten, unter Bildung von Kohlenoxyd zersetzt würden, ist in andern Versuchen diese Erhitzung nicht angewendet. Das Resultat war in beiden Fällen das gleiche, d. h. die Zerlegung des Kohlenoxydhämoglobin trat bei Behandlung mit dem Wasserstoffstrom in 5 bis 6 Stunden nicht ein, wenn nicht zugleich die Temperatur sehr erhöht war.

Wird eine wässrige Lösung von Kohlenoxydhämoglobin im siedenden Wasserbade erhitzt, so coagulirt dieselbe, indem sich der sehr feinkörnige Niederschlag nur sehr langsam zu Flocken vereinigt und die Flüssigkeit sich klärt. Der erhaltene Niederschlag hat eine hell carminrothe Farbe und zeigt bei der Prüfung mit dem Spectroscop im klaren reflectirten Sonnenlicht die beiden characteristischen Absorptionsstreifen des Kohlenoxydhämoglobin. Es wird diese Coagulation und optische Prüfung am Besten im zugeschmolzenen Glasrohr bei Abwesenheit von Sauerstoff vorgenommen. Erhitzt man dann auf 125° im Oelbade, so bleiben die Erscheinungen unverändert. Der Niederschlag giebt im Vacuum der Quecksilberpumpe kein Kohlenoxyd ab, verändert sich an der atmosphärischen Luft höchstens oberflächlich, wenn er feucht derselben dargeboten wird, löst sich in schwacher Alkalilauge bei Anwesenheit von Sauerstoff unter Bildung von Hämatin, bei Abwesenheit von Sauerstoff zu einer scheinbar unveränderten Kohlenoxydhämoglobinlösung, indem die Spectralabsorptionen genau die nämlichen sind, wie die jener Lösungen.

Wird eine wässrige Lösung von Kohlenoxydhämoglobin bei Abwesenheit von Sauerstoff im zugeschmolzenen Glasrohr mit verdünnter Schwefelsäure gemischt, so bleiben die Ab-

sorptionserscheinungen im Spectrum kürzere oder längere Zeit, meist mehrere Wochen, unverändert; erhitzt man dann die Mischung, so erfolgt bei niederer oder höherer Temperatur je nach der Concentration des Schwefelsäurezusatz früher oder später mehr bläulichrothe Färbung und bei genügender Concentration rother Niederschlag, die Lösung zeigt dann die Lichtabsorptionen des Hämatoporphyrin und wird durch nachherigen Zutritt von Sauerstoff nicht verändert.

Wenn man bei Abwesenheit von Sauerstoff im zugeschmolzenen Glasrohr starke Natronlauge mit wässriger Lösung von Kohlenoxydhämoglobin mischt, so bleiben die Absorptionserscheinungen im Spectrum ungeändert, selbst längeres Erhitzen der Mischung im geschlossenen Rohr auf und über 80° im Wasserbade verändert die Spectralerscheinungen nicht, die Absorptionsstreifen bleiben am gleichen Ort im Spectrum und gleich intensiv. Erhitzt man auf 98 bis 100° einige Zeit, so erfolgt ein feinkörniger Niederschlag, bestehend aus Krystallen mit schwärzlich-röthlicher Farbe. Die Krystalle sind als solche erst bei 300facher Vergrösserung gut zu erkennen; sie bilden meist sternförmig gruppirte Aggregate. Ist der Laugezusatz genügend stark, so entfärbt sich hierbei die Lösung vollkommen. Lässt man dann die Mischung im geschlossenen Rohr erkalten, so löst sich der Niederschlag allmälig wieder auf und die Lösung erhält damit wieder die Spectralerscheinungen des Kohlenoxydhämoglobin. Man kann die Fällung und Wiederlösung des Niederschlags beliebig oft im geschlossenen Rohr wiederholen. Oeffnet man das Rohr, so dass Sauerstoff zutritt, so bildet sich aus dem feinkrystallinischen Niederschlag, den man abfiltriren kann, ebenso, wenn er sich gelöst hat, aus dem Farbstoff in der Lösung sehr bald Hämatin, welches mit dem Alkali gelbe, grünliche bis rothe Lösung giebt.

Für die geschilderten Versuche über die Einwirkung von Säure und Alkalilauge auf Kohlenoxydhämoglobin u. s. w. bei Abwesenheit von Sauerstoff habe ich mich mit grossem Vortheil der in meiner «Physiologischen Chemie» auf Seite 390 abgebildeten und beschriebenen Röhren mit Einsatz von gestielten oben offenen Röhrchen bedient.

Um nähere Aufklärung über die geschilderten Vorgänge zu erhalten, waren mehrere weitere Untersuchungen erforderlich.

Es wurden zunächst zwei von den oben erwähnten doppelt S-förmig gebogenen Röhren mit einander durch einen Kautschukschlauch verbunden, nachdem in die erste Abtheilung concentrirte Schwefelsäure, in die zweite etwas gepulverte Oxalsäure, in die dritte Kalilauge von 1,27 spec. Gew. und in die vierte etwas Oxyhämoglobinlösung gebracht war. Ein Strom von Wasserstoffgas wurde durch diese Röhren geleitet, nachdem das Gas gewaschen, dann durch glühendes Rohr gegangen war. Aus dem zweiten doppelt S-förmigen Rohr trat das Gas durch Wasser in einer Waschflasche und von da durch langen Kautschukschlauch und am Ende zu enger Spitze ausgezogenes Glasrohr in's Freie. Nach 2stündigem Durchleiten von Wasserstoffgas war mittelst Spectroscop keine Spur von Oxyhämoglobin in der Farbstofflösung mehr zu finden, dennoch wurde zur Sicherheit noch $^1/_2$ Stunde Wasserstoff durchgeleitet. Darauf wurde das zweite doppelt S-Rohr ziemlich horizontal gehalten, so dass etwas Kalilauge zur Hämoglobinlösung floss, dann dasselbe wieder vertical gehängt. Sofort erschienen in der Blutfarbstofflösung die Absorptionserscheinungen des Hämochromogen bei der Prüfung mit dem Taschenspectroscop. Die stark alkalische Lösung wurde noch fast zum Sieden erhitzt, während der Wasserstoffstrom langsam immer fortdauerte. Die Absorptionsstreifen des Hämochromogen waren sehr scharf und dunkel. Nach dem Erkalten wurde das erste doppelt S-förmige Rohr für kurze Zeit horizontal gehalten, so dass concentrirte Schwefelsäure zur Oxalsäure floss. Das Gemenge kurze Zeit erhitzt, lieferte Kohlenoxyd und CO_2, von denen weiter getrieben die CO_2 durch die Kalilauge absorbirt wurde, während das CO zur Hämochromogenlösung gelangte. Die alsbald vorgenommene Prüfung mit dem Spectroscop ergab, dass die Absorptionsstreifen des Hämochromogen verschwunden und dafür diejenigen des Kohlenoxydhämoglobin eingetreten waren. Dem entsprechend war auch die Gesammtfärbung der Flüssigkeit eine feurigere, schönere geworden. Es wurde noch lange

Zeit Wasserstoff durchgeleitet und endlich das zweite doppelt S-förmige Rohr an beiden Enden durch Ausziehen im Wasserstoffstrome zugeschmolzen. Die Spectralerscheinungen blieben unverändert die des Kohlenoxydhämoglobin.

In einem andern Versuche wurde in die erste Abtheilung eines doppelt S-förmigen Rohres Aetzkalilösung von 1,27 spec. Gew. und in die zweite Abtheilung eine verdünnte Lösung von Kohlenoxydhämoglobin gebracht, dann mehrere Stunden Wasserstoffgas durchgeleitet, welches durch Glühen im mit Thon beschlagenen Rohr von Spuren von Sauerstoff befreit war. Die Spectralabsorptionen in der Kohlenoxydhämoglobinlösung blieben unverändert. Durch kurzes Horizontallegen des doppelt S-förmigen Rohres bei langsamem Wasserstoffstrom wurde darauf ein Theil der Kalilauge zur Kohlenoxydhämoglobinlösung hinübergetrieben, und nach Verticalrichtung des doppelt S-förmigen Rohres die Mischung mit dem Bunsen'schen Brenner erwärmt. Die Absorptionsstreifen des Kohlenoxydhämoglobins waren dann noch immer unverändert. Als aber die Mischung im langsamen Wasserstoffstrome bis zum Sieden erhitzt war, verschwanden diese Absorptionsstreifen und es traten dafür die Absorptionserscheinungen des Hämochromogens bleibend ein. Die Enden des doppelt S-förmigen Rohres wurden im Wasserstoffstrome ausgezogen und zugeschmolzen und die Stellung der Absorptionsstreifen mit grossem Spectroskop mit beleuchteter Scala im Sonnenlichte gemessen.

Konnte es nach den beschriebenen Versuchen nicht zweifelhaft sein, dass das Hämochromogen mit Kohlenoxyd zusammengebracht bei nicht zu hoher Temperatur die Spectralerscheinungen des Kohlenoxydhämoglobin hervorbringt, so schien es von Interesse, zu bestimmen, ob eine Verbindung des Hämochromogen mit CO entsteht, welche die gleiche Atomgruppe enthält, wie das Kohlenoxydhämoglobin.

Es standen zwei Wege zur experimentalen Beantwortung dieser Frage offen. Nämlich 1. musste, im Falle dass diese Gruppe eine Aenderung erfuhr bei der Spaltung von Kohlenoxydhämoglobin, eine Aenderung der Gastension sich zeigen

durch austretendes oder weiterhin aufgenommenes Kohlenoxyd, wenn diese Spaltung im zugeschmolzenen Glasrohr bei Abwesenheit von Sauerstoff, aber Vorhandensein von überschüssigem gasförmigen Kohlenoxyd ausgeführt wird. 2. konnte ein gemessenes Volumen reines Kohlenoxyd über Quecksilber mit Hämochromogenlösung von bekanntem Gehalt zusammengebracht und das von der Lösung aufgenommene Kohlenoxydvolumen bestimmt werden.

Beide Methoden lieferten übereinstimmende Resultate.

In ein Glasrohr wurden eingebracht: 1. eine nicht zu verdünnte Lösung von Kohlenoxydhämoglobin, 2. in einem oben offenen Stielrohr eine Portion 10procentiger Natronlauge, 3. ein kleines ungefähr 16 cm. hohes, nur ungefähr 2—3 mm. weites Quecksilbermanometer, in dessen einem oben geschlossenen Schenkel eine 10 cm. lange Luftsäule eingeschlossen war. Eine Theilung war mit dem Diamant auf die Schenkel des Manometer aufgezeichnet. Das stets vertical gehaltene Glasrohr wurde oben zu engem Rohr ausgezogen, mit Kohlenoxydgas gefüllt und dann durch Ausziehen in der Flamme geschlossen. Der ganze Apparat blieb zunächst 4 Wochen bei 20—30° stehen, um durch die Fäulniss in der Kohlenoxydhämoglobinlösung die letzten in den Flüssigkeiten absorbirten Spuren von Sauerstoff sicher zu entfernen. Nachdem dann mehrmals bei 15° übereinstimmende Werthe der Stellung des Quecksilberniveau in beiden Schenkeln des Manometer abgelesen waren, wurde das Rohr horizontal gelegt und durch Hin- und Herbewegen eine gleichmässige Mischung der Natronlauge mit der Kohlenoxydhämoglobinlösung herbeigeführt. Das Quecksilber im Manometer wurde bei dieser Behandlung wohl etwas verschoben, aber wegen der Enge des Rohrs nicht von Gasblasen getrennt. Weder unmittelbar nach der Mischung, noch nach wochenlangem Stehen bei 20—30°, noch bei mässiger weiterer Erwärmung wurde der Stand des Quecksilberniveau (stets bei 15° und verticaler Stellung des Rohres gemessen) geändert gefunden. Die Absorptionsstreifen in der Lösung bei Prüfung mit dem Spectroscop waren gleichfalls ungeändert geblieben. Schliesslich

wurde der ganze Apparat über 1 Stunde in siedendem Wasser erhitzt. Nach dem Herausnehmen zeigte sich reichlicher schwärzlich-rother pulveriger Niederschlag und bedeutende Verminderung der Färbung der Flüssigkeit und nach dem Erkalten eine Verminderung der Gastension im Rohr; das Quecksilberniveau im offenen Schenkel des Manometer stand 2 mm. höher als vorher. Im Verlaufe der nächsten Wochen löste sich vom Niederschlage wieder mehr und mehr auf, die Lösung nahm dunklere Färbung an und das Quecksilberniveau im offenen Schenkel stieg allmählig noch um 3 mm. Diese Veränderung nach Einwirkung der Siedetemperatur ist nur dann erklärlich, wenn angenommen wird, dass in der Siedetemperatur eine theilweise Abtrennung des Kohlenoxyd vom Hämochromogen stattgefunden hat, zugleich aber ein Theil des Kohlenoxydes in der stark alkalischen Flüssigkeit in ameisensaures Salz umgewandelt ist.

Für die direkte Bestimmung des durch Hämochromogen gebundenen Kohlenoxydgases diente eine Lösung von reinem Hämatin, dargestellt aus Häminkrystallen, welche mit Eisessig gewonnen waren. Die Lösung enthielt in 100 cbcm. 0,5 gr. trocken gewogenes Hämatin.

In ziemlich lange, mit Quecksilber frei von Luftblasen gefüllte Absorptionsröhren, die in der Bunsen'schen Quecksilberwanne standen, wurden Portionen von Kohlenoxyd eingeleitet, die aus Oxalsäure mit concentrirter Schwefelsäure dargestellt und mit viel starker Kalilauge gewaschen waren. Die Einleitung dieser Portionen geschah erst, nachdem aus dem kleinen Entwickelungskolben über 2 Liter Kohlenoxyd in ein Gasometer übergeleitet waren. Durch eingeführte und 24 bis 48 Stunden darin verweilende, befeuchtete Aetzkalikugeln an Platindrähten wurden die noch vorhandenen Spuren von Kohlensäure entfernt.

Nachdem die Volumina der Kohlenoxydgasportionen bestimmt waren, wurden zu zwei dieser Portionen je 20 cbcm. der schwach alkalischen Hämatinlösung, jede enthaltend 0,1 gr. Hämatin, zu zwei andern Portionen des Gases ebenso viel concentrirte Lösung von hydroschwefeligsauren Natrium,

SO_2HNa, mittelst einer Bürette hinzugebracht, welche eine hakenförmig umgebogene Spitze hatte. Nach öfterem vorsichtigem Umschütteln und Stehenlassen für mehrere Tage fand die Ablesung der Volumina des restirenden Kohlenoxydgases statt. Darauf wurde zu der einen Portion, welche mit Hämatinlösung in Berührung war, etwas concentrirte Schwefelwasserstoffschwefelkaliumlösung, SKH, zur anderen 20 cbcm. hydroschwefeligsaures Natrium gebracht, und zu der dritten und vierten CO-Portion die bis dahin nur mit hydroschwefeligsauren Natrium in Berührung gewesen waren, wurden nun von der Hämatinlösung 22 cbcm. zur einen und 18 cbcm. zur andern aus Büretten hinzugeleitet. Die Flüssigkeitsmischungen blieben mehrere Tage über Quecksilber mit dem Kohlenoxyd in Berührung und wurden jeden Tag mehrmals vorsichtig damit geschüttelt. Endlich fanden die Ablesungen der restirenden CO-Volumina statt. Folgende Ablesungen und Berechnungen ergaben sich in den einzelnen Versuchen:

Versuch I:	Gasvolum.		Temperatur.	Druck in Millimeter.	Gasvolum 0^0 1 m. Dr.	
Portion CO-Gas	31,556	cbcm.	8,0°	650,6	19,946	cbcm.
Nach Einwirkung von 0,1 gr. Hämatin	29,387	»	7,7°	684,633	19,568	»
Nach Hinzubringen von SKH	24,666	»	7,3°	704,793	16,932	
Versuch II:						
Portion CO-Gas	38,495	»	7,6°	647,3	24,243	»
Nach Einwirkung von 0,1 gr. Hämatin	35,667	»	7,7°	692,575	24 025	»
Nach Hinzufügen von SO_2HNa	30,087	»	6,5°	721,435	21,201	»
Versuch III:						
Portion CO-Gas	38,175	»	7,6°	641,2	23,815	»
Nach Einwirkung von SO_2HNa	35,262	»	7,3°	694,012	23,835	»
Nach Hinzufügen von 0,09 gr. Hämatin . . .	30,835	»	6,5°	730,284	21,995	»

Versuch IV:	Gas-volum.	Tempe-ratur.	Druck in Millimeter.	Gasvolum 0⁰ 1 m. Dr.
Portion CO-Gas	30,379 cbcm.	7,6⁰	628,4	18,573 cbcm.
Nach Einwirkung von SO_2HNa	26,987 »	7,3⁰	713,354	18,750 »
Nach Einbringen von 0,11 gr. Hämatin . . .	—	—	—	—

(beim Umschütteln verunglückt).

In diesen Versuchen haben 20 cbcm. alkalischwässrige Lösung enthaltend 0,1 gr. Hämatin aufgenommen

in Versuch I: 0,497 cbcm. CO von 0⁰ und 760 mm. Druck.
in Versuch II: 0,287 » » » » » » » »

Diese kleinen Werthe entsprechen der Absorption dieses Gases von dieser Temperatur und diesem Druck in 20 cbcm. Wasser bei den beobachteten Temperaturen und Drucken.

Nach Bunsen's[1]) Bestimmungen absorbiren

1 Liter Wasser bei 5,8⁰ 28,69 cbcm. CO von 0⁰ und 0,760 m. Druck.
1 » » » 8,6⁰ 27,125 » » » » » » »

also 20 cbcm. Wasser bei 5,8⁰ 0,517 cbcm. CO von 0⁰ u. 0,760 mm. Druck.
» » » » 8,6⁰ 0,494 » » » » » » » »

Bei den kleinen Werthen, um die es sich hier handelt, ist eine genauere Uebereinstimmung nicht zu erwarten. Durch den Gehalt an festen Stoffen, die etwas höhere Temperatur und den geringeren Druck, unter welchem das Gas stand, musste ausserdem der Absorptionscoefficient etwas vermindert sein gegenüber den Bunsen'schen Werthen.

Sehr bestimmt ergiebt sich, dass das Hämatin in alkalischwässriger Lösung und den sonstigen angegebenen Verhältnissen sich mit Kohlenoxyd nicht verbindet.

Nach der Reduction des Hämatin zu Hämochromogen mittelst KSH oder SO_2HNa betrug die Volumabnahme des Kohlenoxydgases

in Versuch I: 3,468 cbcm. bei 0⁰ und 760 m. Druck berechnet.
» » II: 3,716 » » » » » » »
» » III: 2,690 » » » » » » »

---

[1]) Gasometrische Methoden, 2. Aufl., Seite 212.

Wenn das Hämatin 9 % Eisen enthält und für 1 Atom oder 56 Gewichtstheile Eisen nach der Reduction zu Hämochromogen 1 Mol. CO = 28 Gewichtstheile gebunden wird, so nimmt das aus 0,1 gr. Hämatin gebildete Hämochromogen 3,596 cbcm. CO von 0° und 760 mm. Dr. auf[1]). Die obigen Ergebnisse der Versuche I und II stimmen mit dieser Berechnung überraschend gut überein, denn das Mittel aus den ersten beiden am Besten gelungenen Versuchen giebt 3,592 cbcm. von 0° und 760 mm. Dr.

Durch diese Versuche ist erwiesen, dass das Hämochromogen auch bei Abwesenheit von Albuminstoffen bei den angegebenen Temperaturen und Drucken CO bindet zu einer Verbindung, welche 1 Mol. CO für 1 Atom enthaltenes Eisen, also 1 Gewichtstheil CO für 2 Gewichtstheile Eisen, im Hämochromogen aufnimmt. Dies entspricht auch der Zusammensetzung des Kohlenoxydhämoglobin, in welchem gleichfalls dies Verhältniss obwaltet, da sein Eisengehalt 0,42 %, und das Volumen des in Verbindung tretenden Kohlenoxyd 167 cbcm. von 0° und 760 mm. Dr. für 100 gr. Hämoglobin beträgt.

Wenn der Farbstoff, welcher sich in den mit Kohlenoxyd behandelten Blutkörperchen befindet, umgewandelt wird in das krystallisirte Kohlenoxydhämoglobin, und dann dieser Körper durch Alkalilauge in Kohlenoxydhämochromogen und Albuminat gespalten wird, so erleidet die Verbindung hinsichtlich des Kohlenoxydgehaltes keine Aenderung.

Ebenso tritt bei dieser Umwandlung keine Aenderung in den Lichtabsorptionen ein, welche die Prüfung im Spectrum ergiebt[2]).

Man ist sonach berechtigt zu dem Schluss, dass im krystallisirten Kohlenoxydhämoglobin und ebenso im Farbstoff der Blutkörperchen eine

---

[1]) Bunsen, Gasometr. Methoden, S. 381.
1 Liter CO von 0° und 760 mm. Dr. = 1,2515 gr.

[2]) Von Jaederholm sind die Spectralabsorptionen des mit CO behandelten reducirten Hämatin (= Hämochromogen) bereits beschrieben. Meine Messungen bestätigen nur die Messungen von Jaederholm. Maly, Jahresber. f. Thierchemie, 1874.

bestimmte Atomgruppe enthalten ist, welche das Kohlenoxyd gebunden enthält, welche ferner sich durch die bestimmten Lichtabsorptionen auszeichnet, die auch nach Abspaltung des Albuminats im Kohlenoxydhämochromogen unverändert fortbesteht.

Es kann kein Zweifel bestehen, dass diese Atomgruppe identisch ist mit derjenigen, welche im arteriellen Blutfarbstoff und im krystallisirten Oxyhämoglobin 2 Atome Sauerstoff an der Stelle des Mol. CO gebunden enthält.

Die Oxyhämoglobine, die Hämoglobine und Kohlenoxydhämoglobine, ebenso wie die Farbstoffe in den rothen Blutkörperchen enthalten alle Hämochromogen, und dasselbe kann durch einfache Abspaltung aus ihnen, selbst krystallisirt und nahezu quantitativ, erhalten werden. Dieser Farbstoff ist viel beständiger in seinen Verbindungen im Protoplasma der Blutkörperchen, auch noch im Hämoglobin, als nach Abspaltung des Albuminstoffs. Höchst wahrscheinlich ist es eine esterartige Verbindung, welche unter Wasseraufnahme gelöst wird beim Uebergang des Hämoglobin in Albuminstoff und Hämochromogen.

Von mehreren Seiten hat man sich gegen die von mir eingeführte Bezeichnung Hämochromogen ausgesprochen. Ich glaube jetzt nicht allein das Recht in Anspruch nehmen zu dürfen, diesen Körper zu benennen, weil ich ihn zuerst als einfaches Spaltungsproduct der Blutfarbstoffe kennen gelernt, sondern auch weil ich ihn jetzt krystallisirt und isolirt vor mir habe. So lange man nur die Absorptionsstreifen seiner Lösungen kannte, durfte man Zweifel an der Identität des durch Reduction aus Hämatin und des durch Spaltung aus dem Blutfarbstoff erhaltenen Körpers hegen. Sie sind jetzt beseitigt. Die von Stokes mit Rücksicht auf das Auftreten der Absorptionsstreifen nach Anwendung von reducirenden Substanzen auf Hämatinlösungen gewählte Bezeichnung «reducirtes Hämatin» kann jetzt als eine zweckmässige nicht

mehr gelten, weil einerseits Hämatin stets umgewandeltes, nämlich oxydirtes Hämochromogen ist, und Bezeichnungen wie: «Kohlenoxyd-reducirtes Hämatin» gewiss keine glücklichen genannt werden könnten.

Die Bezeichnung Hämatin ist, wie ich bereits hervorgehoben habe, früher viel gebraucht (Lecanu, Mulder), und ich sehe keinen Grund, sie zu ändern. Das Hämatin ist eine Substanz, die durch Oxydation aus dem Hämochromogen entsteht, aber ohne Zweifel weniger Sauerstoff enthält, als das in Oxyhämoglobin enthaltene Sauerstoffhämochromogen, ebenso wie das Methämoglobin weniger Sauerstoff enthält, als das Oxyhämoglobin selbst.

Wird eine Lösung von Oxyhämoglobinkrystallen im Wasser in 2 gleiche Theile getheilt, die eine mit Luft, die andere mit Kohlenoxyd geschüttelt, dann beide getrennt zum Sieden erhitzt, längere Zeit im Sieden erhalten und ein Theil der Flüssigkeit abdestillirt, so coagulirt die Oxyhämoglobinlösung grossflockig und aus der klaren Flüssigkeit geht in das Destillat Ameisensäure in geringer Menge über, während das Kohlenoxydhämoglobin, wie bereits oben beschrieben ist, zunächst beim Erhitzen eine hellrothe Trübung giebt, die sich nur allmählig beim langsamen Sieden in sehr feinen Flocken absetzt. Im Destillat finden sich keine Spuren von fetten Säuren. Auch beim Uebergang von Oxyhämoglobin in Methämoglobin tritt saure Reaction ein, welche nicht dem Methämoglobin selbst eigen ist. Bei der Hämatinbildung aus Oxyhämoglobin wird ein Theil des Sauerstoffs zu andern Oxydationen verwendet, also kann das Hämatin nicht ebensoviel Sauerstoff enthalten als das im Oxyhämoglobin enthaltene Sauerstoff-Hämochromogen.

Es ist am Wahrscheinlichsten, dass das Hämatin eine Ferriverbindung ist, während Hämochromogen nachweisbar das Eisen als Ferro-Atom enthält. Wie viele Ferroverbindungen veranlasst auch das freie Hämochromogen bei Berührung mit indifferentem Sauerstoff neben seiner eigenen Oxydation zugleich die von anderen vorhandenen oxydablen

Substanzen, welche für sich allein unfähig sind, mit atmosphärischem Sauerstoff Verbindung einzugehen.

Ueber die Eigenschaften des krystallisirten Hämochromogen, welches man bei 100° durch Einwirkung von Natronlauge auf Hämoglobin erhält, hoffe ich bald weitere Mittheilungen machen zu können.

Die lockere Bindung des Sauerstoff durch den Blutfarbstoff der venösen Blutkörperchen, den man zum Unterschiede von Hämoglobin Phlebin nennen kann, und die hierdurch eintretende Bildung des Farbstoff der arteriellen Blutkörperchen, welchen ich vorschlagen möchte zum Unterschiede von Oxyhämoglobin Arterin zu nennen, ist eine unerlässliche Bedingung des Lebens der warmblütigen, vielleicht auch der kaltblütigen Wirbelthiere. Weder das Hämochromogen noch das krystallisirbare Oxyhämoglobin würden, wenn sie in den rothen Blutkörperchen als solche enthalten wären, den Anforderungen genügen können, dieses Leben zu unterhalten. Das Hämochromogen würde sich zu Hämatin oxydiren und sofort wirkungslos sein, da Hämatin (und seine Verbindung mit Albuminstoff des Methämoglobin) Sauerstoff in lockere Verbindung nicht aufnimmt, zur Zurückführung in Hämochromogen einer Reduction bedarf und neben dieser eine Uebertragung von indifferentem Sauerstoff unmöglich wäre. Hämoglobin in wässriger Lösung wird durch den Sauerstoff der Luft nicht oxydirt, es nimmt ihn auf in dieselbe färbende Atomgruppe, welche auch in Phlebin diese Aufnahme vollführt, aber die hierdurch entstehende Verbindung des Oxyhämoglobin giebt viel schwieriger das Sauerstoffmolekül wieder ab als das Arterin, so dass die Uebertragung des indifferenten Sauerstoff aus der Luft an die Organe des Körpers unter im Uebrigen gleichen Verhältnissen viel unvollkommener erfolgen würde, als sie in Wirklichkeit durch die rothen Blutkörperchen geschieht.

Wäre Oxyhämoglobin in den rothen Blutkörperchen als solches enthalten, so würde auch eine Erholung nach Kohlen-

oxydvergiftung kaum möglich sein, da auch durch den Sauerstoff der Luft Kohlenoxydhämoglobin viel schwieriger unter Abtrennung des Kohlenoxyd zerlegt wird als die Kohlenoxydverbindung des Phlebin.

Nach zahlreichen von mir im Verlauf dieser Untersuchungen ausgeführten Messungen wurden folgende Wellenlängen für die Absorptionsstreifen des Hämochromogen, des CO-Hämoglobin und CO-Hämochromogen gefunden. Zu Grunde gelegt sind die Angström'schen Werthe:

$$D = 5894;\ E = 5269;\ b = 5175.$$

Hämochromogen	α	= 5653	bis	5474;	β	= 5269	bis	5139
CO-Hämoglobin	α'	= 5825	»	5616;	β'	= 5505	»	5222
Etwas verdünntere Lösung	α'	= 5808	»	5588;	β'	= 5465	»	5222
CO-Hämochromogen . .	α''	= 5825	»	5616;	β''	= 5500	»	5222
Etwas verdünntere Lösung	α''	= 5808	»	5588;	β''	= 5500	»	5222

Ueber das Myohämatin.

Von

C. A. MacMunn.

(Der Redaction zugegangen am 26. März 1889.)

In dem kürzlich erschienenen 4. Hefte des XIII. Bandes dieser Zeitschrift beschreibt Herr Ludwig Levy die Ergebnisse seiner Untersuchungen über die Muskeln von Tauben, und gelangt daraus zum Schlusse, dass der von mir als «modificirtes» Myohämatin benannte Farbstoff aus Hämochromogen besteht, und nimmt an, dass dieses «modificirte» Myohämatin seine Entstehung der Zersetzung des Hämoglobins verdankt. Diesen Ansichten kann ich mich jedoch aus folgenden Gründen nicht anschliessen:

1. Nimmt man ein Stückchen des ganz frischen Brustmuskels einer zu Tode entbluteten Taube und drückt man dasselbe im Compressorium so weit zusammen, bis sein Spektrum untersucht werden kann, so sieht man das Spektrum des Myohämatins selbst. Aus diesem Myohämatin ist das «modificirte» Myohämatin bei seiner Behandlung nach der Struve'schen Methode entstanden, und nicht aus dem Hämoglobin.

2. Das Myohämatin kann wohl unmöglicher Weise ein Zersetzungsprodukt des Hämoglobins sein, denn es kommt in den Muskeln der Invertebraten, z. B. der Insekten, vor, in denen man das Hämoglobin nicht antrifft.

Wenn Herr Levy den Flügelmuskel der gewöhnlichen Hausfliege (Musca vomitoria) im Mikrospektroskop unter-

suchen, so würde er jedenfalls in demselben Myohämatin finden.

3. Bei mikrospektroskopischer Vergleichung des zweiten Absorptionsstreifens des modificirten Myohämatins mit dem entsprechenden Streifen des Hämochromogens sieht man mitten in jenem einen schmalen dunkelschattirten Theil, der in diesem fehlt.

4. Die Absorptionsstreifen des modificirten Myohämatins liegen näher am violetten Ende des Spektrums als die des Hämochromogens und treten immer an derselben Stelle des Spektrums auf. Die obigen Unterschiede lassen sich selbst aus den Messungen des Herrn Levy ersehen. Und überdies ist das Myohämatin von den übrigen bekannten thierischen Pigmenten sehr genau charakterisirt durch das allgemeine Aussehen seiner Absorptionsstreifen.

5. Ich kann denn nicht Herrn Levy beistimmen, dass die Histohämatine Zersetzungsproducte des Hämoglobins sind, denn das letztere kommt häufig in vielen Thieren nicht vor, bei denen die Histohämatine auftreten.

6. Ich habe schon früher gezeigt, dass weder das Myohämatin selbst, noch das «modificirte» Myohämatin bei seiner Zersetzung Producte lieferte, welche entstehen müssten, wenn es wirklich aus wahrem Hämatin oder Hämochromogen bestände; und dieses gilt ebenso in Bezug auf die Histohämatine.

Ich weiss wohl, dass die Histohämatine, sowie das Myohämatin dem Hämoglobin sehr nahe stehen, ihre Existenz ist jedoch von diesem unabhängig, und sie müssen ebenso wie das Hämoglobin als Mutterpigmente mit ähnlichen respiratorischen Eigenschaften betrachtet werden. Diese nahe Verwandtschaft zu dem Hämatin war es in der That, die mich bewogen, den Namen Histohämatine einzuführen.

Bei der Untersuchung dieser Farbstoffe habe ich mich stets zweier Spektroskope bedient, nämlich eines von Sorby und eines gewöhnlichen, welches für chemische Zwecke geeignet ist. Auch habe ich stets mit Flammenlicht gearbeitet.

da ich das Tageslicht, aus leicht ersichtlichen Gründen, bei solchen feineren Beobachtungen für nicht geeignet halte.

Das «modificirte» Myohämatin habe ich nach der Reduction, bei einstündlichem Durchleiten von Sauerstoff nicht wieder oxydiren können, doch bin ich der Ansicht, dass das Myohämatin selbst leicht reducirt und wieder oxydirt werden kann, wodurch es seine respiratorischen Eigenschaften anzeigt.

Aus diesen und anderen Gründen halte ich an meiner ursprünglichen Meinung fest, dass das «modificirte» Myohämatin, wenn auch sehr verwandt mit dem aus Hämoglobin dargestellten Hämochromogen, keineswegs mit demselben identisch und nicht aus dem Hämoglobin entstanden ist.

Beitrag zur Knop-Hüfner'schen Harnstoffbestimmungsmethode.

Von

R. Luther, stud. chem.

(Der Redaction zugegangen am 30. März 1889.)

Es ist eine schon lange bekannte Thatsache, dass es bei Anwendung der Knop'schen Methode zur Bestimmung des Harnstoffs nie gelingt, den Harnstoff vollständig durch unterbromigsaures Alkali zu zerlegen. Ein Theil des Stickstoffs bleibt immer in einer bisher noch nicht näher untersuchten Form zurück. Wie weiter unten angeführte Experimente beweisen, wird ein Theil des nicht in Freiheit gesetzten Stickstoffs zu Salpetersäure oxydirt, ein anderer Theil dagegen bleibt in einer nicht oxydirten Form zurück, so dass er aus der Flüssigkeit durch Kochen mit Alkalien oder alkalischen Erden als Ammoniak ausgetrieben werden kann. Ueber die Form, in der dieser zweite Antheil des Stickstoffs in der Lösung verbleibt, können sehr verschiedene Annahmen gemacht werden. Es kann sich Cyan- resp. Cyanursäure bilden[1], welche letztere bekanntlich mit Harnstoff eine sehr widerstandsfähige Verbindung bildet[2]; es können Verbindungen

---

[1]) Foster (Jahresber. d. Chem., 1878, 219; Chem. Soc. J., 33, 470. Siehe auch Fenton (Jahresb. d. Chem., 1878, 352, und Chem. Soc. Journ. 33, 300), welcher Letztere die Entstehung von Cyansäure durch Einwirkung von unterchlorigsaurem Alkali auf Harnstoff experimentell nachgewiesen hat.

[2]) Herzig (Monatshefte d. Chemie, II, 412), 1881.

von Harnstoff mit Natriumbromid resp. Natriumbromat entstehen, die vielleicht der weiteren Einwirkung des Broms hemmend entgegentreten; es können sich Verbindungen von bromiger Säure[1]), Bromsäure oder Bromwasserstoff mit Harnstoff bilden; kurz es giebt Hypothesen genug, die den Stickstoffverlust erklären könnten, und es wäre eine nicht undankbare Aufgabe, zu untersuchen, welche von ihnen die richtige ist. Ich will jedoch nicht näher auf jede Hypothese eingehen, da es mir nur daran gelegen ist, experimentell nachzuweisen, dass ein Stickstoffverlust vorhanden ist.

Da alle Autoren constatirt haben, dass der Stickstoffverlust um so grösser wird, je concentrirter die Lösung ist, und es mir gerade darauf ankam, einen möglichst grossen Theil des Stickstoffs in der Entwickelungsflüssigkeit zu erhalten, so wandte ich eine bedeutend concentrirtere Harnstofflösung an als sonst üblich ist: meine Harnstofflösung war 20procentig, während sonst meist 1procentige Lösungen benutzt werden. Die Bromlauge war nach Knop's Vorschrift bereitet.

Versuch I. 5 cbcm. Harnstofflösung = 1,000 gr. Harnstoff wurden in der Kälte ca. 1 Stunde lang mit überschüssiger Bromlauge behandelt, bis die Gasentwickelung aufhörte und die Flüssigkeit deutlich gelb gefärbt war. Dann wurde das überschüssige Brom durch Natriumhyposulfit entfernt, das freie Alkali mit Schwefelsäure neutralisirt, Magnesiumoxyd hinzugefügt und destillirt. Vorgeschlagen war titrirte Schwefelsäure. Nachdem etwa $^1/_2$—$^2/_3$ abdestillirt war, wurde die vorgeschlagene Säure mit Barytwasser titrirt.

Vorgeschlagen waren 10 cbcm. H_2SO_4 entspr.	10,95	cbcm. Barytwasser,
Zum Neutralisiren verbraucht	10,05	» »
	0,90	cbcm. Barytwasser,

entsprechend 1,02 mgr. Stickstoff = 0,22 % des Gesammtstickstoffs.

---

[1]) Analog der von Schiel (Lieb. Ann., 112, 76) 1859 beobachteten Verbindung von Harnstoff und chloriger Säure.

Versuch II. 0,1 gr. Harnstoff wurden ganz wie im Versuch I behandelt.

Vorgeschlagen 10 cbcm. entsprechend . .	10,95 cbcm. Barytwasser.
Zum Neutralisiren verbraucht	10,18 » »
	0,72 cbcm. Barytwasser.

entsprechend 0,8 mgr. Stickstoff = 1,4% des Gesammtstickstoffs.

Interessant ist die Erscheinung, dass im Versuch II trotz der 10mal kleineren Harnstoffmenge fast dieselbe absolute Menge Stickstoff in der Flüssigkeit zurückgeblieben war. Dies liess vermuthen, dass der Stickstoff in einer Verbindung zurückbleibe, die nur sehr langsam unter der Einwirkung von Alkalien resp. alkalischen Erden Ammoniak entwickelt. Da die Destillationsdauer in den Versuchen I und II ungefähr dieselbe gewesen war, so waren auch die absoluten Mengen des entwickelten Ammoniaks nahezu gleich, und es war daher die Vermuthung nahe gelegt, dass im Versuche I, der zu kurzen Destillationsdauer wegen, nicht aller Stickstoff als Ammoniak entbunden sei. Um die Wahrheit dieser Vermuthung experimentell zu prüfen, wurde der Rückstand vom Destilliren im Versuche I noch einmal mit MgO destillirt und gab, wie erwartet wurde, einen wenn auch langsamen, so doch sehr lange andauernden Strom von Ammoniak. Quantitativ wurde die Gesammtmenge des in unoxydirter Form zurückbleibenden Stickstoffs nicht gemessen und obige 2 Versuche zeigen nur, dass 1. Stickstoff bei den oben angeführten Versuchsbedingungen zurückbleibt und dass 2. die Menge des in dieser Form zurückbleibenden Stickstoffs nicht weniger als ca. $1^1/_2$% beträgt.

Ein anderer Theil des Stickstoffs wird zu Salpetersäure oxydirt und bleibt auf diese Weise in der Flüssigkeit. Fauconier[1]) war der Erste, der auf diese Fehlerquelle aufmerksam machte und eine Methode angab, um die kleine Menge des entstandenen salpetersauren Salzes von den übrigen Ver-

[1]) Fauconier (Fres. Zeitschr., 19, 508, und Bull. soc. chim., [2], III, 102), 1880.

bindungen zu isoliren. Sein Verfahren war folgendes: Er behandelte den Harnstoff in der Wärme mit Kaliumhypochlorit, concentrirte die Flüssigkeit durch Eindampfen und versetzte sie mit Schwefelsäure, um einen Theil des Kaliums als (relativ schwer lösliches) Sulfat herauszufällen, wobei er jedoch die Flüssigkeit nicht sauer werden liess. Darauf filtrirte er, dampfte das Filtrat ab und erhitzte den Rückstand bis zur lebhaften Rothgluth, um die Chlorate und Hypochlorite zu Chloriden, die eventuell vorhandenen Nitrate zu Nitriten zu reduciren. Dann extrahirte er die Schmelze mit concentrirtem Alcohol und erhielt Kaliumnitrit in Lösung, während Kaliumsulfat und Kaliumchlorid ungelöst im Rückstande blieben. Aus dem Kaliumnitrit, welches er nach Verdampfen der alcoholischen Lösung in fester Form erhielt, machte er die für die salpetrige Säure characteristischen Reactionen. Um zu beweisen, dass bei der Oxydation des Harnstoffs sich nur Salpetersäure und keine salpetrige Säure bilde, extrahirte er das Salzgemisch noch vor dem Glühen mit Alcohol. Da das Kaliumnitrit in (wässrigem) Alcohol sehr leicht löslich ist, so müsste es bei dieser Behandlungsweise gelöst werden; er erhielt jedoch nach Verdampfen des Alcohols keinen festen Rückstand. Es hatte sich mithin nur Salpetersäure, und keine salpetrige Säure gebildet.

So scharfsinnig dies Verfahren, die Entstehung von Salpetersäure bei der Oxydation des Harnstoffs nachzuweisen, auch ist, so kann ihm, glaube ich, doch folgende eventuelle Fehlerquelle vorgeworfen werden: es wäre nicht unmöglich, dass die Salpetersäure erst beim Glühen von noch unzersetztem Harnstoff oder cyansaurem Salz[1]) mit so stark oxydirenden Substanzen wie Kaliumchlorat gebildet würde.

Um diesen Fehler zu vermeiden, habe ich versucht, auf nassem Wege die möglicherweise entstandene Salpetersäure zu isoliren. Ich schlug dabei folgenden Weg ein. Der Harnstoff wurde in der Wärme mit überschüssiger Brombarytlauge oxydirt, bis die Gasentwickelung aufhörte, und dann zur

---

[1]) Siehe Seite 500, Anmerkung 1.

Flüssigkeit Silbersulfatlösung im Ueberschuss hinzugefügt, w durch Silberbromid, -Bromat, -Oxyd, Baryumsulfat und vi leicht etwas Baryumbromat niedergeschlagen wurden. (D Silberhypobromit, welches sich dabei bilden könnte, ist se unbeständig und zerfällt rasch in Silberbromat und Bromi Die Lösung enthielt jetzt nur noch überschüssiges Silbersul und eventuell Silbernitrat. Um diese letzteren zu trenne wurde Barythydratlösung hinzugefügt, wodurch Silberox und Baryumsulfat niederfielen, und Baryumnitrat neben de Ueberschuss des Baryumhydroxyds in Lösung blieb. De Ueberschuss des Baryumhydroxyds wurde durch Kohlensäu gefällt und das Gemisch filtrirt. Das Filtrat konnte nu etwaiges Baryumnitrat enthalten.

Ca. 0,1 gr. Harnstoff wurden in oben angegebener Weise behandelt, wobei peinlich darauf geachtet wurde, dass all Reagentien absolut salpeterfrei waren. Das letzte Filtrat ergab nach dem Verdampfen einen ziemlich beträchtlichen Rückstand von salpetersaurem Baryt, in dem die Salpetersäure durch die bekannten Reactionen — Brucin, Eisenvitriol, Phenolschwefelsäure, Indigo, Diphenylamin — nachgewiesen werden konnte. Die Menge der Salpetersäure wurde annähernd bestimmt, und es ergab sich, dass mindestens 3—4% des Stickstoffs zu Salpetersäure oxydirt waren.

Was das Vermeiden der beiden oben angeführten Fehlerquellen betrifft, so kennen wir gegen die erste kein Mittel, wohl aber gegen die zweite (die Bildung der Salpetersäure), und zwar Glycose[1]). Die Glycose scheint als leicht oxydirbarer Körper die Salpetersäure in statu nascenti zu reduciren und so eine Anhäufung derselben zu verhindern. Um dies nachzuweisen, behandelte ich, ganz wie oben, 0,4 gr. Harnstoff und 0,5 gr. Traubenzucker mit Brombarytlauge, Silbersulfat und Baryumhydroxyd. Es liess sich jedoch zum Schluss keine Salpetersäure nachweisen.

Zum Schluss möchte ich noch bemerken, dass obige zwei Versuche einen Beweis dafür liefern, wie wenig die

[1]) S. Fauconier, l. c.

Reaction, auf der die Knop-Hüfner'sche Harnstoffbestimmungsmethode beruht, theoretisch studirt ist. Das Knop-Hüfner'sche Verfahren hat deshalb für's Erste keine Bedeutung als wissenschaftlich genaue analytische Methode, denn eine solche setzt voraus, dass der Verlauf der Reaction, auf der sie beruht, die Producte und Educte, die Rollen, welche Concentration, Zeit, Temperatur und mitgelöste Stoffe spielen, quantitativ genau bekannt sind. Dies aber trifft bei dem oben genannten Verfahren nicht zu.

Dorpat, den 10./22. März 1889.

Ueber Zuckerbildung und andere Fermentationen in der Hefe. I.

Von

Prof. E. Salkowski.

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts zu Berlin.)
(Der Redaction zugegangen am 4. April 1889.)

In meiner Mittheilung über die antiseptischen Eigenschaften des Chloroformwassers[1]) habe ich bereits darauf hingewiesen, dass das Chloroformwasser u. A. ein vortreffliches Mittel sei, um Spuren von löslichen Fermenten (Enzymen) nachzuweisen, weil man die Mischungen, in denen das Stattfinden von Fermentationen nachgewiesen werden soll, beliebig lange stehen lassen kann, ohne durch Auftreten von Fäulnisserscheinungen gestört zu werden. Dasselbe gilt natürlich auch von Lösungen, die man auf ein zu fermentirendes Substrat einwirken lassen will.

Einen, wie mir scheint, nicht uninteressanten Beleg zu dieser Behauptung bilden Beobachtungen, welche ich hinsichtlich des Vorkommens löslicher Fermente in der Hefe gemacht habe, deren — soviel mir bekannt — noch nirgend Erwähnung gethan ist.

I. Die Zuckerbildung in der Hefe.

Den Ausgangspunkt meiner Untersuchungen über diesen Gegenstand bildete eine zufällige Beobachtung. Eine kleine Quantität amylumhaltiger Presshefe hatte, mit etwa dem 6 fachen Gewicht Chloroformwasser (5 cbcm. Chloroform in 1 L. Wasser

[1]) Deutsche med. Wochenschr., 1888, No. 16.

durch starkes Schütteln gelöst) vermischt, mehrere Monate gestanden. Als ich nach dieser Zeit die klar über der Hefe stehende, ziemlich dunkel gefärbte Lösung untersuchte, nachdem dieselbe von der Hefe abgegossen, dann durch Erwärmen und Durchleiten eines Luftstromes vom Chloroform befreit worden war, zeigte sie sich in beträchtlichem Grade zuckerhaltig: sie gab starke Oxydul-Ausscheidung bei Anstellung der Trommer'schen Probe, schwärzte sich beim Erhitzen mit Nylander'scher Wismuthlösung, zeigte mit frischer Hefe schnelle und starke Gährung. Da sich die von mir benutzte Hefe bei früheren Untersuchungen stets als zuckerfrei erwiesen hatte, so musste man den Zucker als bei der Digestion mit Chloroformwasser neu gebildet ansehen, vermuthlich durch einen fermentativen Process, und es lag in dieser Beobachtung möglicherweise der Schlüssel für die sog. Selbstgährung der Hefe, die Entwicklung von Alkohol und Kohlensäure aus der Hefe selbst. Es musste indessen doch auch die Möglichkeit im Auge behalten werden, dass sich der Zucker aus, der Hefe beigemischtem, Amylum gebildet hatte, und es war weiterhin auch nicht von der Hand zu weisen, dass sich der Zucker überhaupt nicht neu gebildet hatte, sondern nur sehr langsam extrahirt war.

Hierüber waren also genauere Versuche anzustellen, bei denen die Verwendung völlig amylumfreier Hefe erwünscht war. Eine solche war im Handel nicht zu erhalten, wohl aber eine annähernd amylumfreie. Die mikroskopische Untersuchung der besten im Handel befindlichen Presshefe ergab immer vereinzelte mit Jod sich blau färbende Amylumkörnchen von Kartoffeln, häufig freilich so wenige, dass man mehrere Gesichtsfelder durchmustern musste, um ein oder einige Körnchen zu entdecken. Ausserdem fanden sich auch Gewebstrümmer von Pflanzentheilen, herrührend von den bei der fabrikmässigen Herstellung der Presshefe angewendeten Materialien, die mit Jod bläuliche Färbung annehmen. Dementsprechend konnte auch stets oder fast stets makroskopisch mit Jod-Jodkaliumlösung Amylum nachgewiesen werden, jedoch mit Sicherheit nur auf dem Wege, dass eine Quantität Hefe

mit Wasser gekocht und der erkalteten Mischung Jodlösung hinzugesetzt wurde. Es machte sich dann eine mehr oder weniger deutliche, immer aber ziemlich schwache Blaufärbung der Mischung bemerkbar. Wurde die Presshefe direct mit Jodlösung übergossen, so färbte sie sich an der Oberfläche bräunlich-roth, nicht bläulich. Für die beabsichtigten Versuche konnte diese minimale Beimischung wohl als bedeutungslos angesehen und die Hefe unbedenklich verwendet werden. Im Folgenden ist diese Hefe als «amylumfreie Hefe» bezeichnet worden. Amylumhaltige Hefe ist hier als Hefe zweiter Qualität im Handel.

Die Digestion der Hefe mit Chloroformwasser geschah stets in Glasstöpselflaschen unter häufigem Umschütteln bei 37—39° C. Ausnahmslos wurde zwischen Hefe und Chloroformwasser das Verhältniss 1 : 10 gewählt, nachdem sich in einigen Versuchen gezeigt hatte, dass geringere Verhältnisse nicht ausreichten, um die Selbstgährung ganz zu verhüten. Auch bei diesem Verhältniss scheint anfangs die Selbstgährung nicht ganz ausgeschlossen zu sein, wenigstens ist in den Flaschen anfangs etwas Ueberdruck vorhanden. Durch Zusatz eines geringen Ueberschusses von Chloroform und etwa 2stündiges Stehen in der Kälte unter häufigem Umschütteln vor der Digestion lässt sich diese Unvollkommenheit beseitigen.

Fäulnisserscheinungen traten bei der Digestion niemals auf, wiewohl man in der Hefe bei sorgfältigem Suchen stets vereinzelte Bacterien — Bacillen — nachweisen kann. Ihre Anzahl war freilich in der frischen Hefe stets ganz minimal, mehr davon fand sich öfters in der einige Tage im Kühlen aufbewahrten Hefe. Gleichzeitig zeigte diese Hefe einen eigenthümlichen weinartigen oder obstartigen Geruch. Die Hefe wurde daher stets mikroskopisch untersucht und möglichst frisch angewendet.

Nach mehrtägigem, am Anfang 7—8-, in den späteren Versuchen nur 2—3tägigem Stehen wurden die Mischungen filtrirt. Durch wiederholtes Zurückgiessen gelang es stets, ein fast klares Filtrat zu erhalten. Die Filtration ging immer sehr langsam und wurde deshalb möglichst im Kalten aus-

geführt, sie nahm meistens einen Tag, auch noch mehr in Anspruch. Es war nicht möglich, die rückständige Hefe ganz auszuwaschen, meistens musste ich mich damit begnügen, so viel Filtrat zu erhalten, als Chloroformwasser angewendet worden war. In den Berechnungen wurden dann 10 cbcm. Filtrat = 1 gr. Hefe gesetzt. Dabei ist allerdings ein kleiner Fehler gemacht, es dürfte aber kaum möglich sein, ihn ganz zu vermeiden.

Ehe ich auf die einzelnen Versuche eingehe, welche zur Aufklärung der Sachlage angestellt wurden, mögen einige Bemerkungen über die Art des Nachweises und die Bestimmung des Zuckers Platz finden. — In den eigentlichen Versuchen erhoben sich Schwierigkeiten nach dieser Richtung nicht, wohl aber in den zahlreichen Controllversuchen, in denen es sich darum handelte, die Frage zu entscheiden, ob sich Spuren von Zucker gebildet hatten oder nicht. Es war in den Controllversuchen in jedem Falle nothwendig, die Chloroformwasserauszüge durch Eindampfen zu concentriren, da sie an sich für die Untersuchung zu verdünnt waren. Für den Zuckernachweis in diesen durch Abdampfen concentrirten Lösungen liegen die Verhältnisse ähnlich wie beim Harn: auch diese Lösungen enthalten störende Substanzen, welche den Nachweis sehr erschweren können.

Zur vorläufigen Orientirung diente meistens Erhitzen mit Fehling'scher Lösung. Hierbei trat oft dieselbe Erscheinung ein, wie beim Harn: Reduction ohne Ausscheidung von Oxydul, besonders dann, wenn das Eindampfen (auf dem Wasserbad) zu weit fortgesetzt und in Folge dessen Bräunung eingetreten war. Am besten fiel die Reaction in der Regel aus, wenn die zu prüfende Lösung mit dem halben Volumen Fehling'scher Lösung versetzt und dann gekocht wurde. Auffallender Weise führte die Reaction mit Natronlauge + Kupfersulfat, die beim Harn meiner Ansicht nach den Vorzug verdient, auch nicht weiter, ja es konnte sogar öfters damit keine Reaction mehr erhalten werden, wenn die Reaction mit Fehling'scher Lösung noch positiv ausfiel, d. h. Ausscheidung von Oxydul bewirkte. Es ist nun freilich die Frage

sehr berechtigt, ob nicht die Reduction ebenso viel resp. ebenso wenig beweist, wie die Ausscheidung von Oxydul. An sich ganz gewiss, man kann nicht einmal sagen, dass die Ausscheidung immer einem grösseren Gehalt an Zucker entspricht. Hier aber, wo es sich stets um gleichartige Flüssigkeiten handelt, die Bedingungen für die Lösung des Kupferoxydul immer ziemlich dieselben sind, wird die Ausscheidung von Oxydul allerdings zusammenfallen mit einer etwas grösseren Menge von Zucker, Nichtausscheidung mit Anwesenheit sehr kleiner Mengen, resp. Reduction durch andere Substanzen. Aus diesem Grunde habe ich daran festgehalten, nur die Ausscheidung als beweisend anzusehen. Dass die Ausscheidung beweisend ist, geht aus dem Umstand hervor, dass in diesem Falle die Gährungsprobe stets sicher positiv ausfiel. Im anderen Fall fiel die Gährungsprobe in der Regel negativ aus, einigemal aber doch auch positiv.

Die Reinheit der Reaction wird ferner öfters getrübt durch die Gegenwart von Hefegummi in den Lösungen. Es scheidet sich alsdann nach Zusatz von Fehling'scher Lösung eine beim Erwärmen zunehmende, feinflockige, weissliche Trübung aus, welche beim stärkeren Erhitzen gelb wird, indem sich das Kupferoxydul auf den gummihaltigen Flocken niederschlägt[1]).

Die quantitative Bestimmung geschah gewichtsanalytisch durch Wägen des beim Erwärmen mit Fehling'scher Lösung gebildeten Kupferoxydul als Oxyd. Die Bestimmung als Oxyd ist sicher weniger genau, als die Bestimmung in Form von Schwefelkupfer, die ich sonst in der Regel anwende; zur Lösung der vorliegenden Fragen schien sie mir aber genau genug und ich gab ihr den Vorzug, weil sie weit weniger umständlich ist. — Auch bei der quantitativen Bestimmung traten mitunter Schwierigkeiten auf. Aus, nach Ausweis der Gährungsprobe, sehr schwach zuckerhaltigen Lösungen war

---

[1]) Möglicherweise beruht diese Erscheinung auch auf der Gegenwart von Zwischenproducten; ich komme weiter unten noch auf diese Frage zurück.

mitunter beim Versuch der quantitativen Bestimmung gar kein Kupferoxydul zu erhalten, vermuthlich in Folge der zerstörenden Wirkung des Alkali auf den Zucker (in den qualitativen Proben machte sich diese naturgemäss nicht so stark geltend, weil die Quantität des Alkali geringer war). Sodann aber kam es auch öfters vor, dass das Kupferoxydul durch das Filter ging und die Bestimmung auf diesem Wege unausführbar wurde. Diese Schwierigkeit trat namentlich in den stark eingeengten Lösungen hervor. Dieses ist auch der Grund, warum häufig der Zucker direct in dem Chloroformwasserfiltrat bestimmt wurde. Dabei ist aber sorgfältig auf die vollständige Entfernung des Chloroforms zu achten, da dasselbe bekanntlich stark reducirt. Die Gegenwart von Resten desselben kann sehr bedeutende Fehler verursachen und die Austreibung desselben durch Erwärmen erfolgt selbst unter Zuhülfenahme eines Luftstroms nicht so leicht, wie man sich nach der Flüchtigkeit des Chloroforms vorstellen sollte. In den späteren Versuchen wurde zur Entfernung des Chloroforms meistens ein abgemessenes Volumen des ursprünglichen Filtrates ca. 10 Minuten im Kolben gekocht, erkalten gelassen, wieder auf das ursprüngliche Volumen aufgefüllt. Das gewogene Kupferoxyd wurde öfters durch Auflösen in Salzsäure, Verdünnen und Zusatz von Rhodankalium auf Gehalt an Oxydul, durch Auflösen in Salpetersäure oder Salzsäure und Uebersättigen mit Ammoniak auf Gehalt an Erdphosphaten geprüft. Solche waren niemals, kleine Mengen von Kupferoxydul öfters vorhanden. Die Zuckerbestimmung ist in diesen Fällen also etwas zu niedrig ausgefallen. — Ich gehe nunmehr zur Mittheilung der einzelnen Versuche über.

Versuch I.

Es wurden gleichzeitig digerirt:

Mischung A. Amylumfreie Hefe (60 gr.) mit Chloroformwasser (600).

Mischung B. Dieselbe Hefe, jedoch vorher sterilisirt, mit Chloroformwasser (60 : 600). Zur Sterilisirung wurden 60 gr. Hefe in einem Becherglas abgewogen, dasselbe dann $1^1/_2$ Stunden im Dampftopf (strömender Dampf) erhitzt, die erkaltete Hefe mit dem abgemessenen Volumen Chloroformwasser in die Flasche gespült.

Mischung C. Amylumhaltige Hefe mit Chloroformwasser (60 : 600).

Mischung D. Dieselbe Hefe, jedoch vorher sterilisirt mit Chloroformwasser (60 : 600).

Mischung E. Amylum mit Chloroformwasser (60 : 600).

Nach 8tägiger Digestion wurde filtrirt, aus Proben des Filtrates das Chloroform ausgetrieben. A und C gaben beim Erhitzen mit Fehling'scher Lösung rothes Kupferoxydul, B, D und E verhielten sich negativ[1]). A und C gaben Gährung mit Hefe, B, D und E nicht. Die gesammten Filtrate von B, D und E wurden, jedes für sich, eingedampft, mit Alkohol ausgezogen, die alkoholische Lösung verdunstet, der Rückstand zu 50 cbcm. gelöst: auch in diesen Lösungen war Zucker nicht nachweisbar. — Eine eingehendere Untersuchung der aus A und C stammenden Filtrate musste aus äusseren Gründen unterbleiben.

Versuch II.

Es wurden gleichzeitig digerirt:

Mischung A. 125 gr. amylumfreie Hefe mit 1250 cbcm. Chloroformwasser.

Mischung B. 125 gr. amylumhaltige Hefe mit 1250 cbcm. Chloroformwasser.

Nach 8tägiger Digestion wurde filtrirt, beide Filtrate erwiesen sich nach Entfernung des Chloroforms zuckerhaltig. Auffällig war, dass B constant rothes Kupferoxydul gab, A dagegen schmutzig-gelbes Kupferoxydulhydrat.

Je 1200 cbcm. wurden auf 200 cbcm. eingedampft, in je 5 cbcm. der Zucker bestimmt.

5 cbcm. von A gaben 0,083 gr. CuO,
5 » » B » 0,080 » CuO.

Daraus berechnet sich für die ganze angewendete Quantität Hefe bei A 1,57 gr. Zucker, bei B 1,51 gr., unter der Annahme, dass das Reductionsvermögen mit dem des Traubenzuckers übereinstimmt.

Ein Theil der concentrirten Lösung diente zur Darstellung des Phenylhydrazinderivates. Beim Erhitzen mit salzsaurem Phenylhydrazin und Natriumacetat (1 : 2) auf dem Wasserbad schied sich im Verlauf einer knappen halben Stunde das Phenylhydrazinderivat aus. Nach einmaligem Umkrystallisiren aus heissem Alkohol resp. Eingiessen der alkoholischen Lösung in Wasser und Fortkochen des Alkohols nach E. Fischer erschienen die Verbindungen homogen, schmolzen aber weit niedriger (190—192), als das Phenylglucosazon resp. Phenyllävulosazon.

---

[1]) Dabei ist abgesehen von einer geringen, durch HCl und KCNS nachweisbaren Reduction.

die von vorneherein am wahrscheinlichsten waren. Die Darstellung eines Derivates vom Schmelzp. 204° gelang dagegen auf folgendem Wege.

Ein Theil der concentrirten bräunlich gefärbten Lösung wurde durch Behandlung mit Knochenkohle einigermassen entfärbt, dann mit dem 5fachen Vol. Alkohol absolut gefällt, filtrirt, das Filtrat verdunstet, der Rückstand in Wasser aufgenommen und mit salzsaurem Phenylhydrazin und Natriumacetat erwärmt. — Die nach einer knappen halben Stunde ausgeschiedene Phenylhydrazin-Verbindung zeigte noch nicht den richtigen Schmelzpunkt. Sie wurde daher auf dem Filter nach dem Trocknen mit einer kleinen Quantität heissem Alkohol behandelt, so dass etwa die Hälfte ungelöst blieb, mit kaltem Alkohol nachgewaschen, dann auf's Neue mit heissem Alkohol behandelt.

Diese zweite alkoholische Lösung wurde stark mit Wasser verdünnt, einige Zeit im Sieden erhalten, unter Entweichen des Alkohols schied sich jetzt ein citronengelber, krystallinischer Niederschlag aus, der auf dem Filter gesammelt, gewaschen, getrocknet, den Schmelzpunkt 204—205 zeigte, in Uebereinstimmung mit dem Phenylglucosazon oder Phenylävulosazon. Auch aus der ersten alkoholischen Lösung konnte durch zweimaliges Eingiessen in Wasser eine Verbindung von sehr annähernd richtigem Schmelzpunkt (203—204) erhalten werden [1]. — Die Erscheinungen waren für A und B dieselben.

Die concentrirte Lösung gab starke Gährung mit Hefe, indessen zeigte die Flüssigkeit auch nach mehrtägiger Gährung noch reducirende Eigenschaften, welche möglicherweise auf unvollständige Vergährung des Zuckers zu beziehen sind.

Versuch III.

Es wurden gleichzeitig digerirt:

Mischung A. 125 gr. amylumfreie Hefe + 1250 cbcm. Chloroformwasser.

A. 125 gr. amylumhaltige Hefe + 1250 cbcm. Chloroformwasser.

Nach 7tägiger Digestion filtrirt.

Ein Theil der Lösung wurde nach Entfernung des Chloroforms zur Bestimmung der Reduction und Kohlensäure bei der Gährung verwendet.

10 cbcm. von A gaben 0,0408 und 0,0424, im Mittel 0,0416 CuO,
10 » » B » 0,040 » 0,0394, » » 0,0397 CuO.

---

[1]) In den späteren Versuchen wurden die Phenylhydrazinderivate vom richtigen Schmelzpunkt mit geringerer Mühe erhalten, es ist möglich, dass das in den ersten Versuchen angewandte Phenylhydrazinpräparat nicht ganz rein war und dieser Umstand die Schwierigkeiten verursachte.

Hieraus berechnet sich für A ein Procentgehalt an Zucker = 0,18·, für B = 0,180, oder es sind aus den angewendeten 125 gr. Hefe gebildet bei A 2,36 gr., bei B 2,25 gr. Die Quantität des Zuckers stimmt also in den beiden Versuchen sehr nahe überein.

In je 20 cbcm. von A einerseits, von B andererseits wurde die durch Gährung gebildete CO_2 bestimmt. Der dazu benutzte Apparat bestand aus einem Kölbchen, dessen Ableitungsrohr mit einem Baryt-wasser enthaltenden Absorptionsapparat verbunden war, der seinerseits gegen die Kohlensäure der Luft durch ein Kaliröhrchen geschützt war. Ein zweites Rohr ging durch den Kautschukstopfen des Kölbchens bis unter das Niveau der Flüssigkeit, es war oberhalb des Stopfens in eine Spitze ausgezogen und zugeschmolzen. In das Kölbchen wurden 20 cbcm. des chloroformfreien Filtrates und etwa 0,5 gr. Hefe gebracht. Nachdem der Apparat 45 Stunden bei 35° gestanden hatte, wurde die ausgezogene Spitze abgebrochen, das Kölbchen erhitzt und ein langsamer Luftstrom durchgesaugt, bis man annehmen konnte, dass alle Kohlensäure ausgetrieben und von dem (chlorbaryumhaltigen) Barytwasser absorbirt sei. Der Gehalt des Barytwassers wurde vor der Gährung und nach der Gährung bestimmt. Zum Titriren diente Oxalsäure, von welcher 10 cbcm = 10 Milligr. CO_2. 20 cbcm. des angewendeten Barytwassers erforderten zur Neutralisirung 18,0 cbcm. Oxalsäure.

Der Absorptionsapparat war mit 25 cbcm. Barytwasser, entsprechend 22,5 Milligr. Oxalsäure beschickt; am Ende des Versuches wurde das Barytwasser in einen verschliessbaren Messcylinder entleert, nachgespült, auf 50 cbcm. aufgefüllt, nach dem Absetzen 25 cbcm. der klaren Flüssigkeit mit der Pipette entnommen und titrirt. — Die Gährungsversuche mit A und B wurden mit 2 Apparaten gleichzeitig und unter denselben Bedingungen angestellt.

Die angewendeten 25 cbcm. erforderten nach der Gährung bei A zur Neutralisirung 2,0, bei B 1,8 cbcm. Oxalsäure, somit die 50 cbcm. = 25 cbcm. des ursprünglichen Barytwassers 4,0 resp. 3,6 cbcm. Oxalsäure. Da dasselbe vorher 22,5 cbcm. Oxalsäure erforderte, so sind bei A durch die Gährung 18,5 Milligr. CO_2 gebildet, bei B 18,9 Milligr. Hieraus berechnet sich unter der Annahme einer glatten Spaltung des Zuckers in Alkohol und CO_2 für A ein Gehalt an Zucker = 0,189 %, für B = 0,193 %.

Es ist selbstverständlich, dass bei Anwendung so dünner Lösungen resp. so kleiner Mengen das Resultat kein absolut entscheidendes sein kann, jedenfalls aber spricht der Versuch dafür, dass die Bestimmung nach Fehling und durch Gährung bei dem vorliegenden Zucker annähernd übereinstimmende Resultate ergiebt. Das ist bekanntlich bei der Dextrose und annähernd auch bei der Lävulose [1]) der Fall. Es bedarf wohl noch einer Erklärung, dass ich diesen Gährungsversuch nicht mit

[1]) Tollens, Kohlehydrate in Ladenburg's Handwörterbuch der Chemie, Bd. VI.

einer durch Eindampfen concentrirten Lösung angestellt habe. Das ist aus dem Grunde nicht geschehen, weil in dieser concentrirten Lösung die Vergährung häufig unvollständig erfolgt, während in den verdünnten Lösungen der Zucker ganz vergährt. Dieses Verhalten konnte auch in dem vorliegenden Falle constatirt werden.

Je 1000 cbcm. des Filtrates wurden eingedampft, mit Alkohol gefällt[1]), der alkoholische Auszug verdunstet, der Rückstand in ungefähr 100 cbcm. Wasser gelöst, die stark gefärbte Lösung mit bas. Bleiacetat versetzt. Die von dem sehr geringen Niederschlage abfiltrirte Flüssigkeit wurde durch Schwefelwasserstoff entbleit, filtrirt und die immer noch stark gefärbte Lösung durch Behandlung mit Kohle einigermassen entfärbt: die so erhaltenen Lösungen erwiesen sich linksdrehend (= 0,9 Theilstriche des Soleil-Ventzke'schen Apparates), gaben starke Zuckerreactionen und schnelle Gährung mit Hefe, jedoch konnte vollständige Vergährung nicht erreicht werden.

Die bisherigen Versuche haben gezeigt, dass bei der Autodigestion der Hefe eine gährungsfähige linksdrehende Zuckerart entsteht, deren Phenylhydrazinderivat mit dem Phenyllävulosazon (resp. Phenylglucosazon) übereinstimmt; sie haben ferner gezeigt, dass das Material zur Bildung dieses Zuckers von der Hefe selbst geliefert wird und dass dieser Process ein fermentativer ist, da er an sterilisirter Hefe nicht stattfindet. Der Annahme, dass auch das Amylum ein Material für die Zuckerbildung darstellen könne, sind die bisherigen Versuche nicht günstig gewesen.

Indessen lassen sich gegen die Verwerthung der Versuche nach dieser Richtung einige Einwendungen erheben. Es ist in diesen Versuchen amylumfreie und amylumhaltige Hefe unter möglichst gleichmässigen Bedingungen gehalten worden, um aus dem etwaigen Plus an Zucker auf die Gegenwart eines löslichen, auf Amylum saccharificirend wirkenden Fermentes zu schliessen. Gegen die Beweiskraft dieser Versuchsanordnung lassen sich begründete Bedenken erheben: 1. der Wassergehalt beider Hefesorten ist möglicherweise beträchtlich verschieden, während er in den Versuchen stillschweigend

---

[1]) Bei der Fällung mit Alkohol geht stets etwas Zucker verloren; die Niederschläge, in Wasser gelöst, geben immer positive Fehling'sche Reaction.

gleichgesetzt ist; 2. die amylumhaltige Hefe repräsentirt in demselben Gewicht jedenfalls ein geringeres Gewicht an Hefe. da sie ja zu einem, wenn auch nur sehr kleinen Theil aus Amylum besteht; 3. die Versuche gehen von der Annahme aus, dass in den beiden Hefearten eine gleiche Quantität desjenigen Fermentes enthalten sei, welches auf die Bestandtheile der Hefe selbst saccharificirend wirkt — eine Annahme, die nicht nothwendig richtig zu sein braucht. Richtiger war es offenbar, ein und dieselbe Hefe zu benutzen und derselben in der einen Mischung Amylum hinzuzusetzen, in der anderen nicht. Gleichzeitig sollte dieser Versuch dazu dienen, nochmals die Thatsache zu erhärten, dass es sich wirklich um eine Fermentwirkung handelt.

Versuch IV.

Eine Quantität Hefe, welche sich bei der Untersuchung als fast amylumfrei erwiesen hatte, wurde gleichmässig gemischt und 4 Antheile von je 50 gr. abgewogen, 2 derselben in Bechergläser gebracht und diese $1^1/_2$ Stunden im strömenden Dampf erhitzt, dann erkalten gelassen. Sämmtliche Antheile wurden nun mit je 500 cbcm. Chloroformwasser in Glasstöpselflaschen gespült, in 2 Flaschen ausserdem noch 10 gr. Amylum eingeschüttet. Die Mischungen waren somit:

A 50 gr. Hefe + 500 Chloroformwasser,
B 50 » » sterilisirt + 500 Chloroformwasser,
C 50 » » + 500 Chloroformwasser + 10 gr. Amylum,
D 50 » » sterilisirt + 500 Chloroformwasser + 10 gr. Amylum.

Nach 7tägigem Verweilen im Wärmschrank, dessen Temperatur diesesmal nur 36—37° betrug, wurden die Mischungen filtrirt. Nach dem Austreiben des Chloroforms reducirten A und C die Fehling'sche Lösung stark, B nicht, dagegen zeigte D diesesmal eine Spur Oxydul-Ausscheidung, wenn auch minimal gegenüber A und C.

Je 10 cbcm. von A und C dienten zur Feststellung des Reductionsvermögens. Leider gelang es diesesmal nicht, klare Filtrate zu erhalten, das Kupferoxydul ging zum Theil durch das Filter. Es gelang erst auf einem Umwege: Die ge-

kochten Mischungen (mit Fehling'scher Lösung) wurden zuerst mit Salzsäure angesäuert, dann mit Natronlauge alkalisirt und erwärmt; nach einigem Umrühren erwies sich das Kupferoxydul filtrirbar. Es wurden so erhalten aus 10 cbcm. von A 0,0564 Kupferoxydul, aus 10 cbcm. von C 0,0460 Kupferoxydul. In der amylumhaltigen Mischung hatte sich also erheblich weniger Zucker gebildet: die ganze Zuckerquantität berechnet sich für A zu 1,278, für B zu 1,043 gr. Der ganze übrige Rest der Filtrate von A und C wurde eingedampft, mit Alkohol gefällt, der Alkoholauszug verdunstet, in Wasser aufgenommen (ca. 50 cbcm.) und 24 Stunden mit Kohle stehen gelassen. Die Filtrate erwiesen sich linksdrehend, gährungsfähig, reducirend.

Weiterhin wurde in diesem Falle noch versucht, ob sich durch erneute Digestion der rückständigen Hefe noch Zucker erhalten lasse.

Die auf dem Filter restirende Hefe wurde mit 500 cbcm. Chloroformwasser in eine Flasche gespült und 35 Tage lang weiter digerirt, dann filtrirt. Das Filtrat, auf 100 cbcm. eingedampft, zeigte schwache Zuckerreaction und schwache Gährung. 10 cbcm. gaben 0,0324 gr. CuO, entsprechend im Ganzen 0,14 gr. Zucker. — Die auf dem Filter restirende Hefe wurde nochmals mit Chloroformwasser digerirt und zwar diesesmal 42 Tage lang, dann filtrirt, das Filtrat auf 50 cbcm. eingedampft. Zucker war in dieser Flüssigkeit nicht mehr wahrzunehmen. 10 cbcm. der Lösung gaben beim Erhitzen mit 10 cbcm. Fehling'scher Lösung einige weissliche Flöckchen, welche sich bei andauerndem Kochen röthlich färbten. CuO wurde erhalten 0,0066 gr., für die ganze Flüssigkeit also 0,033 gr. = 0,015 gr. Zucker.

Der bei dieser erschöpfenden Digestion erhaltene Rückstand gab bei $1^1/_2$ stündigem Kochen mit 5procentiger Schwefelsäure eine Lösung, welche starke Zuckerreaction zeigte, und nach Entfernung der Schwefelsäure durch Baryt und Eindampfen auch lebhafte Gährung mit Hefe.

Da sich somit auch in diesem Versuche kein Plus von Zucker in den amylumhaltigen Mischungen ergeben hatte, sah ich von weiteren Versuchen nach diesen Richtungen ab, um so mehr, als auch die sonst an den amylumhaltigen Mischungen gemachten Beobachtungen gegen die Existenz eines Amylum saccharificirenden Fermentes sprachen, nämlich: 1. der Umstand, dass auch aus den amylumhaltigen Mischungen linksdrehender Zucker resultirte, 2. der Umstand, dass auch die Spuren von Stärke, die in der sog. amylumfreien Hefe vorhanden waren, sich nach der Digestion vorfanden — ob ebenso viel, steht freilich dahin —, eine Umwandlung derselben also nicht nachweisbar war.

Da es sich für mich zunächst nur darum handelte, festzustellen, ob unter den gewählten Versuchsbedingungen die Zuckerbildung aus Bestandtheilen der Hefe selbst erfolgt, oder aus beigemengtem Amylum, diese Frage aber durch die bisherigen Versuche entschieden ist, so habe ich weitere Versuche über die etwaige Existenz eines amylumlösenden Fermentes, die ich noch nicht für ganz ausgeschlossen halten möchte, nicht angestellt. Dagegen schienen mir noch weitere Versuche nothwendig, um mit Bestimmtheit zu erweisen, dass es sich in den bisher berichteten Versuchen in der That um eine Bildung von Zucker handelt, so sehr wahrscheinlich dieses auch war, und nicht um eine langsame Auslaugung schon präformirten Zuckers, sowie ferner nicht etwa um eine Inversion von dem Handelsproduct vielleicht beigemischtem Rohrzucker. Diese Versuche sollten gleichzeitig dazu dienen, die Frage über den zeitlichen Verlauf der Zuckerbildung, sowie über die Nebenproducte dabei zu beantworten. Zunächst versuchte ich, etwa vorhandenen Zucker durch Gährung zu entfernen.

Versuch V.

125 gr. Presshefe wurden mit 1250 cbcm. Wasser auf 24 Stunden in den Wärmschrank gestellt. Es trat ziemlich lebhafte Gährung ein, die Mischung roch nach 24 Stunden unangenehm, etwas faulig. Sie wurde filtrirt, die Filtration nahm 24 Stunden in Anspruch.

Ein Theil des Filtrates wurde destillirt. Im Destillat war Alkohol nachweisbar (Reduction von Chromsäure zu Chromoxyd unter Auftreten von Aldehydgeruch, Jodoformbildung), es gab ferner starke Reduction von $AgNO_3 + NH_3 + NaHO$ (Aldehyd? Furfurol?), enthielt kein Aceton. Der Destillationsrückstand, sowie die übrigen Filtrate wurden eingedampft und mit Alkohol gefällt, von dem nicht erheblichen zähen Niederschlag (Pepton und etwas Gummi) abfiltrirt und verdunstet. Weder die Lösung des Verdampfungsrückstandes, noch die Lösung der Alkoholfällung gab Zuckerreaction.

Die rückständige Hefe wurde nun mit 1250 cbcm. Chloroformwasser 7 Tage bei 37—39° digerirt, filtrirt. Das Filtrat gab nach Entfernung des Chloroforms direct keine Zucker-

reaction. Es wurde auf dem Wasserbad eingedampft, mit Alkohol extrahirt, der Alkoholauszug verdunstet, auf 50 cbcm. gebracht, hiermit Reaction angestellt. Beim Erhitzen kleiner Proben mit dem halben Volum Fehling'scher Lösung trat Ausscheidung von gelbem Oxydulhydrat ein, ebenso positive Reaction mit Nylander'scher Wismuthlösung. Die Gährungsprobe 2 mal angestellt fiel dagegen negativ aus. Es ist also Zucker nicht bestimmt nachweisbar. Beziehen wir aber auch die angegebene Reaction auf Zucker, so zeigt die Bestimmung mit Fehling'scher Lösung, dass es sich nur um äusserst geringfügige Mengen handeln kann. Aus 5 cbcm. jener Lösung wurden 0,0264 Kupferoxyd erhalten, somit aus 50 cbcm. 0,264 gr. Dieses würde etwa 0,12 gr. Zucker für 125 gr. Hefe entsprechen, also eine verschwindend kleine Quantität.

Aus solcher Hefe, welche den Process der Selbstgährung durchgemacht hat, ist somit Zucker durch Digestion nicht mehr zu erhalten.

Demnächst versuchte ich, den etwa präformirt vorhandenen Zucker mit Chloroformwasser auszuziehen.

Versuch VI.

125 gr. Presshefe wurden 48 Stunden bei 37—39° mit 1250 cbcm. Chloroformwasser digerirt, dann filtrirt. Das gesammte Filtrat bis auf ca. 50 cbcm. eingedampft und mit etwa 200 cbcm. 95procentigem Alkohol gefällt, filtrirt, verdunstet, die Fällung mit Alkohol noch einmal wiederholt, der Verdunstungsrückstand auf 100 cbcm. gebracht. Zuckerreactionen positiv, Gährung tritt schon nach einer halben Stunde ein, nach 48 Stunden bewirkt die ausgegohrene Lösung noch ganz schwache Reduction mit Fehling'scher Lösung, jedoch keine Oxydulausscheidung. Aus 2 cbcm. wurde 0,064 Kupferoxydul erhalten, daraus ergaben sich für 100 cbcm. 3,20 Kupferoxyd = 1,45 gr. Zucker.

Die auf dem Filter gebliebene Hefe wurde auf's Neue mit 1250 cbcm. Chloroformwasser digerirt, dieses Mal 7 Tage, filtrirt, das Filtrat eingedampft, mit Alkohol gefällt, der Alko-

holauszug verdunstet und in Wasser zu 100 cbcm. gelöst. 5 cbcm. dieser Lösung gaben 0,0716 resp. 0,0726 cbcm., somit enthielt die Lösung 0,65 gr. bezw. % Zucker.

Die Zuckerreactionen verliefen in dieser Lösung ganz besonders schön, weil die störenden Substanzen durch die vorangegangene Digestion entfernt waren; sie mögen ausnahmsweise hier speciell angeführt werden:

1. Mit $^1/_2$ Vol. Fehling'scher Lösung: starke gelbrothe Oxydulausscheidung.
2. Mit Nylander's Wismuthlösung: 0,5 cbcm. auf 5 cbcm. intensive Schwarzfärbung, bei nachträglichem Säurezusatz Caramelgeruch.
3. Mit Indigolösung: das bekannte charakteristische Verhalten.
4. Mit $AgNO_3 + NH_3 + NaHO$: Silberspiegel.
5. Mit Kalihydrat in Substanz erwärmt: stürmische Reaction, bei Ansäuern Caramelgeruch.
6. Mit Hefe: schnelle Gährung nach ca. 1 Stunde; nach 48 Stunden noch geringe Reduction, keine Oxydulausscheidung.
7. Eine Quantität durch Schütteln mit sehr wirksamer Knochenkohle fast entfärbt, polarisirt links ca. 0,8 Theilstriche des Soleil-Ventzke-schen Apparates. Die Kohle absorbirte nur sehr wenig Zucker. 5 cbcm. der entfärbten Lösung gab 0,0674 CuO gegenüber 0,0721 aus der nicht entfärbten. Dieses ist jedoch eine Ausnahme, in der Regel bleibt weit mehr in der Kohle absorbirt, namentlich aus unreinen Lösungen.
8. Die entfärbte Lösnng (ca. 30 cbcm.) mit 1 gr. salzsaurem Phenylhydrazin und 2 gr. Natriumacetat auf dem Wasserbad erwärmt: nach $^1/_2$ Stunde krystallinische Ausscheidung. Diese abfiltrirt, in Alkohol gelöst, durch Eingiessen in Wasser zur Ausscheidung gebracht. Schmp. der gut krystallisirten Verbindung 2040.

Dieser Versuch zeigt, dass auch aus solcher Hefe, von welcher man mit aller Sicherheit annehmen kann, dass sie zuckerfrei ist, bei der Digestion mit Chloroformwasser Zucker zu erhalten ist. Auch von Rohrzucker musste die einmal digerirte Hefe mit Sicherheit frei sein, da Hefe nach meinen früheren Erfahrungen bei Digestion mit chloroformhaltigen Rohrzuckerlösungen das Mehrfache ihres Gewichtes an Rohrzucker innerhalb 48 Stunden vollständig invertirt.

Das gleiche Resultat hatte ein zweiter Versuch, bei welchem die erste Extraction möglichst abgekürzt wurde, um die Zuckerbildung während der Extraction möglichst herabzudrücken.

Versuch VII.

2,3162 gr. einer Presshefe gaben 0,6842 gr. Trockenrückstand = 29,5 %. — 100 gr. dieser Hefe mit 1000 cbcm. Chloroformwasser gut durchgeschüttelt, dann sofort filtrirt. Die Filtration nahm 24 Stunden in Anspruch. Das ganze Filtrat wurde auf dem Wasserbad auf 100 cbcm. eingedampft. Diese Lösung gab beweisende Zuckerreaction, auch positive Gährungsprobe. Die Fehling'sche Zuckerbestimmung verlief nicht fehlerfrei. 5 cbcm. gaben 0,031 CuO, somit enthielten die 100 cbcm., aus 100 gr. Hefe stammend, 0,28 gr. Zucker.

Die rückständige Hefe wurde wiederum mit 1000 cbcm. Chloroformwasser 8 Tage digerirt, dann filtrirt, das Filtrat auf 100 cbcm. eingedampft. 2 cbcm. der Lösung gaben 0,0662 resp. 0,0632 CuO, Mittel 0,0646 CuO. Die Bestimmung war nur auf dem in Versuch IV angegebenen Umwege möglich. Zuckergehalt der Lösung somit 1,46 %. — Die durch Alkoholfällung gereinigte Lösung gab beim Erwärmen mit salzsaurem Phenylhydrazin und Natriumacetat in einer halben Stunde krystallinisches Phenylhydrazinderivat; Schmp. desselben nach der Reinigung 205°.

Der bei der Digestion gebliebene Heferückstand nochmals mit 1000 cbcm. Chloroformwasser 10 Tage digerirt. Filtrat auf 100 eingedampft. 10 cbcm. dieser Lösung gaben 0,0412 resp. 0,0402 CuO = 0,184 gr. Zucker in 100 cbcm.

Die Zuckerbildung hört also bei mehrmaliger Digestion schliesslich fast vollständig auf.

Einige weitere Versuche dienten zur Feststellung besonderer Verhältnisse.

Versuch VIII.

2,0412 gr. einer Presshefe gaben 0,5818 gr. Trockenrückstand = 28,0 %. Von dieser Hefe werden 5 Proben zu je 100 gr. abgewogen.

A wird mit 1 Liter siedendem Wasser übergossen, dann noch 3/4 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt und filtrirt.

B wird im Kolben 1 Stunde lang mit 1 Liter Alkohol von 50 % im Wasserbad erhitzt und filtrirt.

C wird sterilisirt, dann mit 1000 Chloroformwasser übergossen, dann in den Wärmschrank gebracht.

D wird direct mit Chloroformwasser (1000) übergossen und in den Wärmschrank gebracht.

E wird direct übergossen und bei Zimmertemperatur 66 Stunden stehen gelassen.

Der Auszug A wurde auf dem Wasserbad eingedampft, auf 100 cbcm. aufgefüllt, filtrirt. Das Filtrat war nach mehrfachem Zurückgiessen fast klar, mässig gefärbt. Es gab Peptonreaction, keine Zuckerreaction (enthielt ausserdem Gummi, worüber später berichtet werden soll).

Der Auszug B wurde ebenso behandelt, die Peptonreaction war schwächer, sonst das Verhalten dasselbe.

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass die Hefe keinen Zucker enthält (auch nicht Rohrzucker, sonst hätte bei Zusatz von Natronlauge + Kupfersulfat tiefblaue Färbung entstehen müssen), noch auch sich Zucker bei der Einwirkung von siedendem Wasser oder siedendem Alkohol aus der Hefe bildet.

C, D und E wurden nach 66 Stunden filtrirt, je 50 cbcm. des Filtrates abgenommen und vom Chloroform befreit. In 10 cbcm. von C war beim Kochen mit Fehling'scher Lösung im Ueberschuss keine Ausscheidung zu erhalten, 10 cbcm. von D lieferten 0,0532 resp. 0,0514 CuO, Mittel 0,0523 CuO; 10 cbcm. von E lieferten 0,0394 CuO. Dies entspricht für 100 gr. Hefe bei D 2,372 gr. Zucker, bei E 1,79 gr. Zucker. Somit findet die Zuckerbildung auch bei Zimmertemperatur statt, bleibt jedoch etwas geringer. Ferner zeigt sich aber, dass es gar nicht so langer Digestion bedarf, wie sie in den früheren Versuchen angewendet worden ist, denn die erhaltene Zuckermenge ist grösser — auf Trockensubstanz bezogen 8,47 % — wie in allen vorhergehenden Versuchen, bis auf einen. Es scheint danach fast, als ob bei längerer Digestion ein Theil des Zuckers wieder verloren geht.

Der Rest der Lösungen, je 950 cbcm., wurde auf je 95 cbcm. eingedampft. C gab nunmehr ziemlich starke Reduction, jedoch keine Oxydulausscheidung und keine Gährung. Ebensowenig gelang die Phenylhydrazinreaction in der durch Fällung mit Alkohol gereinigten Lösung: es schieden sich nur Spuren eines gelblichen Niederschlages aus, beim Versuch der Reinigung verschwand jedoch die geringe Quantität unter den Händen.

Versuch IX.

2,169 gr. Presshefe (amylumfrei) gaben 0,6024 Trockenrückstand = 27,7 %. Von dieser Hefe einzelne Portionen abgewogen.

A 100 gr. mit 1000 cbcm. Chloroformwasser 66 Stunden digerirt.

B 100 gr. sterilisirt mit 1000 cbcm. Cchloroformwasser 66 Stunden digerirt.

C 172 gr. mit 1720 cbcm. Chloroformwasser 66 Stunden digerirt, filtrirt.

D 100 gr. mit 1 Liter Wasser ausgekocht.

Ich führe an dieser Stelle nur die Zuckerbestimmung in A und B an. Die Auszüge von A und B wurden auf 100 cbcm. eingedampft. Aus 2 cbcm. von A wurden erhalten 0,0516 resp. 0,0536, im Mittel 0,0526 CuO = 1,72 gr. Zucker für 100 Hefe, bei B verlief die Bestimmung resultatlos.

Versuch X.

Von einer grösseren Quantität (amylumfreier) Presshefe werden

A 100 gr. mit 1000 Chloroformwasser 69 Stunden digerirt,
B 100 gr. sterilisirt, dann ebenso digerirt,
C 100 gr. mit Wasser der Selbstgährung überlassen,
D 50 gr. mit verdünnter Schwefelsäure gekocht.

Auch hier theile ich nur die Zuckerbestimmung in A und B mit. Die Auszüge wurden auf 100 cbcm. eingedampft.

2 cbcm. dieses Auszuges von A gaben 0,0938 CuO = 2,13 gr. Zucker für 100 Hefe. Bei B verlief die Bestimmung resultatlos.

Ueber die Quantität des Zuckers (berechnet unter der Annahme, dass das Reductionsvermögen ebenso gross sei, wie das des Traubenzuckers), giebt nachfolgende Tabelle Auskunft. Was die Berechnung auf die Trockensubstanz der Hefe betrifft, so ist den Versuchen VII, VIII und IX die an derselben Hefe ermittelte Trockensubstanz zu Grunde gelegt, in den anderen Versuchen in runder Zahl ein Gehalt an Trockensubstanz von 29 % angenommen, was eher zu viel, als zu wenig ist (die anderen Bestimmungen hatten ergeben 29,5, 28,0, 27,7 %).

Zucker gebildet in Grammen aus:

Nummer des Versuches.	Beschaffenheit der Hefe.	Dauer der Digestion.	100 gr. Hefe feucht.	100 gr. Hefe trocken.
II.	a) amylumfrei	8 Tage	1,26	4,34
	b) amylumhaltig	8 Tage	1,21	4,17
III.	a) amylumfrei	7 Tage	1,89	6,52
	b) amylumhaltig		1,80	6,21
IV.	a) amylumfrei	7 Tage	2,556	8,81
	b) amylumhaltig		2,086	7,19
VI.	amylumfrei	9 Tage	1,68	5,79
VII.	amylumfrei	8 Tage	1,84	6,24
VIII.	amylumfrei	66 Stunden	2,37	8,47
IX.	amylumfrei	66 Stunden	1,72	6,21
X.	amylumfrei	69 Stunden	2,13	7,33
			Summa . .	71,28

Im Mittel aus 11 Einzelversuchen betrug somit die Quantität des gebildeten Zuckers 6,48 % des Trockengewichts der Hefe, im Maximum 8,81[1]), im Minimum 4,17 %. Die Quantität des Zuckers nimmt mit der Dauer der Digestion nicht zu, eher könnte man annehmen, dass sie bei einer 69 Stunden übersteigenden Dauer der Digestion wieder abnimmt, doch

[1]) In einer vorläufigen Mittheilung, Centralbl. f. d. med. Wiss., 1889. No. 13, bezeichnete ich als Maximum 8,47, die Zahl 8,81 ist dabei übersehen worden.

ist die Zahl der Einzelversuche zu gering, um dieses mit Bestimmtheit behaupten zu können.

Ich möchte an dieser Stelle noch mit einigen Worten auf die Natur des neugebildeten Zuckers eingehen. Die schnelle Bildung des Phenylhydrazinderivates, der Schmelzpunkt derselben, die Linksdrehung der Lösung, die nahe Uebereinstimmung zwischen dem Resultat der Bestimmung nach Fehling und durch Gährung sprechen dafür, dass der neugebildete Zucker Lävulose ist.

Endlich spricht für den Lävulose-Character des neugebildeten Zuckers noch der Umstand, dass die Lösungen desselben die Pettenkofer'sche Gallensäure-Reaction anscheinend besser geben, wie Traubenzucker, in Uebereinstimmung mit der Angabe von E. Külz[1]), dass die Lävulose resp. Saccharose zur Anstellung dieser Reaction geeigneter sei, wie die Dextrose. (Beiläufig bemerkt ist übrigens das verschiedene Verhalten von Dextrose und Lävulose in dieser Richtung sehr auffällig, seitdem wir durch Mylius[2]) wissen, dass diese Reaction nur auf der Bildung von Furfurol aus dem Zucker beruht. Man muss danach annehmen, dass sich das Furfurol aus der Lävulose leichter bildet, wie aus der Dextrose.) Der vollständige Beweis für die Identität des bei der Digestion der Hefe gebildeten Zuckers mit der Lävulose wird aber erst dann als erbracht angesehen werden können, wenn es gelungen ist, den Zucker rein darzustellen und die bei der Lävulose stattfindenden Relationen zwischen Reduction, Polarisation und Gährung an diesem Zucker wiederzufinden. — Es bedarf daher wohl einiger Rechtfertigung, dass ich auf die Reindarstellung des Zuckers nicht grösseren Werth gelegt habe. Die Gründe sind folgende. Zunächst lag mir mehr daran, den Process der Zuckerbildung an sich und seinen Umfang festzustellen, die Natur des Zuckers stand für mich erst in zweiter Linie. Sie hatte erst dann Interesse, wenn der Nachweis erbracht war, dass sich Zucker bildet

---

[1]) Centralbl. f. d. med. Wiss., 1875, No. 31.

[2]) Diese Zeitschr., Bd. XI, S. 492.

und nicht ausgelaugt wird, dass er durch Fermentation entsteht, dass er aus Bestandtheilen der Hefezellen selbst entsteht, dass seine Menge nicht geringfügig ist. Erst wenn alles dieses feststand, hatte die Frage nach der Natur des Zuckers überhaupt Interesse. Die Reindarstellung des Zuckers ist bisher nicht ernstlich in Angriff genommen worden, weil die Aussichten für das Gelingen derselben zur Zeit zu gering sind. — Zunächst steht es zwar fest, dass die Lävulose krystallisirbar ist, allein sie krystallisirt thatsächlich sehr schwer und die Bedingungen für den Eintritt der Krystallisation sind wenig bekannt. Als wesentlich erschwerendes Moment für den Versuch der Reindarstellung kommt die geringe Concentration der Lösungen in Betracht. Da die (frische) Hefe mit dem 10fachen Gewicht Chloroformwasser digerirt wird, so erhält man auch im günstigsten Fall nur eine Lösung von etwa 2 p. M. Gehalt. Die Lösungen müssen also stark concentrirt werden und man muss erhebliche Mengen eindampfen. Das ist ohne grösseren Vacuum-Apparat nicht möglich, ein solcher steht mir aber nicht zur Verfügung.

Will man möglichst schnell gute Zuckerreactionen aus dem chloroformhaltigen Filtrat der digerirten Hefe erhalten, so thut man am besten, eine Quantität des bei möglichst niedriger Temperatur auf $^1/_3$ eingedampften Auszuges (zur Winterszeit habe ich mich des Ausfrierens bedient) mit einem möglichst geringen Ueberschuss von Bleiessig zu fällen, das Filtrat mit H_2S zu entbleien und den überschüssigen H_2S durch CO_2 zu entfernen. Die Lösung ist dann allerdings stets essigsäurehaltig. Man kann auch umgekehrt verfahren, das Filtrat direct mit bas. Bleiacetat fällen und hinterher einengen.

Eine Frage sei hier noch berührt, nämlich, ob die Digestionsflüssigkeit ausser Zucker noch Vorstufen desselben enthält. Dieses scheint in der That öfters der Fall zu sein. In den aus der sterilisirten Hefe erhaltenen Digestionsflüssigkeiten findet man stets Gummi, in den aus der frischen Hefe erhaltenen mitunter auch, mitunter aber auch nicht, sondern statt dessen Substanzen, welche mit dem Gummi zwar die Fäl-

barkeit durch alkalische Kupferlösung theilen, aber anscheinend gleichzeitig reducirend wirken, was das Hefegummi nicht thut. Diese Verhältnisse genauer zu eruiren, muss weiteren Versuchen überlassen bleiben.

II. Anderweitige Spaltungsvorgänge in der Hefe bei der Digestion.

Neben der Bildung von Zucker verlaufen in der Hefe bei der Digestion noch andere Processe, welche gleichfalls fermentativer Natur sind.

1. Jede digerirte Mischung enthält Leucin und Tyrosin, deren Darstellung und Erkennung so einfach ist, dass ich hierauf nicht weiter einzugehen brauche. Das Tyrosin scheidet sich in der Regel schon aus den eingedampften Lösungen direct in Form kreidig-weisser Massen ab, bezw. im Alkoholniederschlag, wenn man die eingedampften Lösungen sofort mit Alkohol fällt. Das Tyrosin schliesst Xanthinkörper ein, von denen es durch Silberfällungen leicht zu trennen ist. Das Leucin geht zum grössten Theil in die alkoholischen Auszüge über und scheidet sich beim Einengen derselben in Form von Häuten ab. Es ist schwer von den letzten Antheilen reducirender Substanz zu befreien, dies gelingt nur unter Aufopferung eines ansehnlichen Theiles des Materials durch wiederholtes Umkrystallisiren und Entfärben mit Kohle. — Auf die Mengen-Verhältnisse bin ich nicht näher eingegangen, da der Hauptzweck der Untersuchung die Berücksichtigung dieses Punktes nicht zuliess.

Auch die Bildung von Leucin und Tyrosin beruht auf einem Fermentvorgang. In den Versuchen, in denen sterilisirte Hefe mit Chloroformwasser digerirt wurde, waren höchstens Spuren von Leucin in den Auszügen nachweisbar. Ebenso wenig sind diese Körper in der angewendeten Hefe präformirt.

Zur genaueren Untersuchung hierauf wurden 500 gr. Presshefe mit 5 L. Wasser (in einzelnen Antheilen zu 100 resp. 200 gr.) 1 bis $1^1/_2$ Stunden auf dem Wasserbad erhitzt, die Auszüge filtrirt und eingedampft. Beim Filtriren der ein-

gedickten Auszüge, das schwierig vor sich ging, jedoch ein klares Filtrat lieferte, blieb auf dem Filter eine schlammige Masse. Die mikroskopische Untersuchung derselben ergab Fetttröpfchen in grösserer Menge neben Hefezellen, welche die Filter passirt hatten. — Das Filtrat wurde mit Alkohol absol. gefällt. Der Niederschlag erwies sich als peptonhaltig (Albumosen waren nur in sehr geringer Menge vorhanden), das alkoholische Filtrat gab beim Verdunsten kleine Quantitäten von Leucin in Form von Häutchen auf der Oberfläche der Flüssigkeit. Es ist nicht gerade ausgeschlossen, dass auch das gefundene Pepton und Leucin nur zum kleinsten Theil wirklich präformirt war, zum grösseren erst durch die Einwirkung des siedenden Wassers entstanden war.

Es ist wohl anzunehmen, dass sich bei der Digestion der Hefe auch Pepton bildet, jedoch ist dieser Punkt nicht näher verfolgt worden.

Auf das Zugrundegehen eines Theiles des eiweissreichen Zelleninhaltes ist wohl auch die Aenderung des mikroskopischen Bildes zu beziehen, welches die digerirte Hefe gegenüber der frischen darbietet. Die digerirten Hefezellen erscheinen erheblich kleiner und gewissermassen weniger prall. Auf Zusatz wässriger Jod-Jodkaliumlösung färbt sich nur die im Centrum liegende Masse gelbbraun, während die frische Zelle bei Behandlung mit Jodlösung einen dicht an der Membran anliegenden gelbbraunen Saum aufweist.

2. Ferner findet man in den Auszügen der frisch digerirten Hefe beträchtliche Quantitäten von direct durch Silberlösung nach Zusatz von Ammoniak fällbaren Xanthinkörpern (der Kürze halber wird im Folgenden dafür öfters der Ausdruck Hypoxanthin gebraucht werden), in den Auszügen der sterilisirten und dann digerirten dagegen nicht.

Von Versuch IX wurden 10 cbcm. des auf 100 cbcm. eingedampften Auszugs von A mit Ammoniak und Magnesiamischung versetzt, mit Wasser verdünnt, von den reichlich ausgeschiedenen Phosphaten abfiltrirt und mit ammoniakalischer Silberlösung versetzt: es entstand ein reichlicher Nieder-

schlag. Der Auszug B aus der sterilisirten Hefe gab, ebenso behandelt, auch nicht die geringste Trübung mit Silberlösung, ja blieb auch bei tagelangem Stehen ganz klar, färbte sich nur etwas dunkler.

Um die Quantität der in den Auszügen von A enthaltenen Xanthinkörper annähernd zu bestimmen, erschien es mir am einfachsten, den Silbergehalt des Niederschlages nach der Volhard'schen Methode mit Rhodanammon zu bestimmen. Voraussetzung ist dabei natürlich, dass der Niederschlag nicht allein frei ist von überschüssigem Silber, was sich durch Waschen leicht erreichen lässt, sondern dass er auch keine Spur von Chloriden mehr enthält, welche bei der nachträglichen Auflösung in Salpetersäure zur Bildung von Chlorsilber, somit zu Verlust von Silber Veranlassung geben würden. Durch anhaltendes Waschen mit lauwarmem Wasser gelingt es schliesslich, wenn die Quantität des Niederschlages nicht zu gross ist, zu einem Punkt zu gelangen, in dem das Waschwasser absolut frei ist von Chloriden. Minimale Spuren von Chloriden bleiben auch dann noch im Niederschlag: quantitativ kommen sie aber wenig in Betracht. Der Silberniederschlag wird zum Zweck der Silberbestimmung verascht, er kann aber auch allenfalls direct in Salpetersäure gelöst werden.

Zur Bestimmung diente eine Rhodanlösung, von der 1 cbcm. 8,69 Milligr. metall. Silber entsprach. Der Silberniederschlag aus den obigen 10 cbcm. aus A erforderte 5,45 cbcm. Rhodanlösung = 54,5 cbcm. oder 0,4736 Ag für 100 gr. Hefe.

Der Ausfall der Prüfung mit Silberlösung könnte leicht zu dem Schluss verführen, dass nur in dem Auszuge der frisch digerirten Hefe Xanthinkörper enthalten seien, in dem aus der sterilisirten Hefe dagegen nicht. So naheliegend dieser Schluss ist, so unrichtig ist er trotzdem. Auch dieser Auszug enthält Hypoxanthin, jedoch in einer latenten Form.

Schon vor einer langen Reihe von Jahren[1]) habe ich darauf aufmerksam gemacht, dass der Leim die Fähigkeit

---

[1]) Pflüger's Arch., Bd. V, S. 95 (1871).

hat, die Bildung eines Silberniederschlages in Hypoxanthinlösungen zu verhindern, und nach zahlreichen Erfahrungen muss ich jetzt sagen, dass in stärkerem oder geringerem Grade alle wässrigen Auszüge der Gewebe derartige störende Substanzen enthalten. So bekommt man z. B. auch aus dem käuflichen Fleischextract weit mehr Hypoxanthin, wenn man es vorher mit Säuren, namentlich Salpetersäure behandelt, als wenn man es direct aus der ammoniakalisch gemachten Lösung mit Silberlösung fällt, ja auch mehr, als wenn man die Lösung mit bas. Bleiacetat fällt etc. Diese Beobachtung deckt sich natürlich nicht mit der von Kossel gefundenen Thatsache, dass das Nuclein die Quelle der Xanthinkörper ist: hier handelt es sich um wässrige Lösungen, das Nuclein aber ist in Wasser ganz unlöslich. Dennoch ist immerhin nicht zu bezweifeln, dass die Wirkung der verdünnten Schwefelsäure auf die Organe beim Kochen derselben damit nach Kossel's Vorschrift nicht allein darauf beruht, dass die Säure das Nuclein spaltet, sondern auch hier zu einem Theil darauf, dass die Säure die störenden Substanzen beseitigt.

Dies ist mit Bestimmtheit nach dem Verhalten der wässrigen Auszüge aus Analogie zu erschliessen. Meine Beobachtungen am Fleischextract habe ich schon erwähnt; in der Litteratur liegen ausserdem noch bestätigende Beobachtungen von G. Salomon[1]) vor, der aus den wässrigen Auszügen von Hundeleber und -Muskeln weit mehr Xanthinkörper erhielt, wenn er die Auszüge mit Salpetersäure kochte, als wenn er sie direct mit Ammoniak und Silberlösung fällte. Für das Kochen mit Schwefelsäure habe ich gleichfalls Beobachtungen an wässrigen Leberauszügen gemacht: sie enthalten unter Umständen direct gar kein fällbares Xanthin oder nur verschwindende Spuren, wohl aber nach dem Kochen mit Schwefelsäure.

Kossel hat bei seinen Untersuchungen diesen Punkt nicht in Betracht gezogen und im sachlichen Interesse ist es gewiss nicht zu bedauern, dass er es nicht gethan hat. Denn

---

[1]) Arch. f. Anat. u. Physiol., 1881, Physiol. Abth., S. 361.

es ist einleuchtend, dass diese Beobachtungen über die Wirkung der Säuren auf die wässrigen Auszüge geeignet sind, die Erkenntniss der wichtigen Thatsache, dass eine in Wasser unlösliche Substanz, das Nuclein, die Muttersubstanz der Xanthinkörper ist, ausserordentlich zu erschweren. Findet man in einem wässrigen Auszug direct kein Xanthin, wohl aber nach dem Kochen mit Säuren, so liegt gewiss keine Veranlassung vor, anzunehmen, dass ein unlöslicher Körper die Muttersubstanz der Xanthinkörper sei[1]).

Gegen die Anwendung der Salpetersäure zu dem Zweck, die Xanthinkörper durch Silberlösung fällbar zu machen, hat Kossel[2]) eingewendet, dass die Resultate dabei leicht zu hoch ausfallen können durch die Bildung von Nitroproducten. Um diesem Einwand gerecht zu werden, wählte ich im vorliegenden Falle verdünnte Schwefelsäure. Es zeigte sich nun in der That, dass auch der Auszug aus der sterilisirten Hefe B Xanthine enthält, diese jedoch erst fällbar werden nach dem Kochen mit Säure.

Es fragte sich nun: 1. ob auch in dem Auszug der frisch digerirten Hefe A (von Versuch IX) noch störende Substanzen seien, welche durch Säuren beseitigt werden können, und 2. ob in dem Auszug der sterilisirten und dann digerirten Hefe B nach dem Kochen mit Säuren ebenso viel Xanthine enthalten seien, wie in A.

Zur Entscheidung dieser Frage wurden 10 cbcm. des eingedampften Auszuges von A und B mit je ca. 20 cbcm. 1procentiger Schwefelsäure ca. 1—1½ Stunden gekocht, dann

[1]) In neuester Zeit hat sich Leo Liebermann (Ber. d. d. chem. Ges., 1888, S. 598, und Centralbl. f. d. med. Wiss., 1889, No. 10 u. 12) gegen die ganze Kossel'sche Lehre ausgesprochen. So interessant die Beobachtungen Liebermann's sind, so kann ich sie einstweilen nicht für genügend erachten, um die Kossel'sche Lehre von der Spaltung des Nucleins zu stürzen. Es ist hier nicht der Ort, dies zu erörtern, auch möchte ich Kossel darin nicht vorgreifen, ich möchte nur das betonen, dass ich auf dem Boden der Anschauungen von Kossel stehe und keinen Grund sehe, sie aufzugeben.

[2]) Diese Zeitschr., Bd. VI, S. 427.

mit Ammoniak und Magnesiamischung gefällt, filtrirt, mit Silberlösung gefällt u. s. w.

Der so hergestellte Silberniederschlag aus A brauchte 5,5 cbcm. = 55 cbcm. für 100 gr. Hefe = 0,478 gr. metall. Silber, der aus B dagegen nur 2,65 cbcm. = 0,23 gr. Ag für 100 gr. Hefe (10 cbcm. des Auszuges mit Salpetersäure unter Zusatz Harnstoff gekocht u. s. w. erforderten 3,1 cbcm.).

Der Versuch zeigt also, dass der Auszug A kein Hypoxanthin in latenter Form weiter enthält, vielmehr alles durch Ag-Lösung fällbar ist. Es war danach zu erwarten, dass in den bei Digestion gebliebenen Hefe-Rückständen bei B noch mehr Xanthin — in Form von Nuclein — steckte, wie bei A. Dieses zeigte sich in der That, als die Rückstände so bearbeitet wurden, wie es Kossel[1]) für die Gewinnung der Xanthinkörper vorschreibt, d. h. 3—4 stündiges Kochen mit 1 procentiger Schwefelsäure, Entfernung der Schwefelsäure durch Baryt etc. Aus A wurde nur eine ganz minimale Quantität Silberniederschlag erhalten, aus B eine relativ ansehnliche Menge, die im Ganzen 18,2 cbcm. Rhodanlösung entsprachen.

Ganz dasselbe Resultat ergab der Versuch X. — 10 cbcm. von B gaben direct keine Silberfällung, 10 cbcm. von A gaben Silberfällung entsprechend 6,5 cbcm. Rhodanlösung. — Nach dem Kochen mit Schwefelsäure gaben: 10 cbcm. von B Silberniederschlag entsprechend 2,05 cbcm. Rhodanlösung, 10 cbcm. A 6,2 cbcm. Rhodanlösung.

Die Wirkung des Fermentes besteht also 1. in der Beseitigung störender Substanzen, 2. in der spaltenden Einwirkung auf das Nuclein. — Dass eine solche in der That vorliegt, zeigt zum Ueberfluss auch noch der verschiedene Gehalt der Auszüge von A und B an Phosphorsäure. Die aus je 10 cbcm. durch Ammoniak und Magnesiamischung enthaltenen Niederschläge wurden gesammelt, gewaschen, geglüht, gewogen. Der Glührückstand ist ganz überwiegend Magnesiumpyrophosphat.

---

[1]) Diese Zeitschr., Bd. VI, S. 426.

Es ergab sich:

bei A[1].	0,170 $Mg_2P_2O_7$	=	1,70 gr. für 100 gr. Hefe.
» B direct	0,085 »	=	0,85 » » 100 » »
» B mit SO_4H_2 gekocht	0,095 »	=	0,95 » » 100 » »

Die Ursache der Differenz in den beiden Bestimmungen von B muss einstweilen dahingestellt bleiben.

Aehnliche Beobachtungen hat schon vor mehreren Jahren (1881) G. Salomon (l. c.) an thierischen Organen gemacht. Salomon untersuchte, wieviel Xanthin man aus Organen, namentlich Leber bekommt, wenn man sie sofort nach dem Tode extrahirt und wenn man sie vorher bis 24 Stunden liegen lässt, und fand in den Auszügen der digerirten Organe bedeutend mehr Xanthinkörper. In diesem Falle handelte es sich ohne Zweifel hauptsächlich um die Beseitigung störender Substanzen durch die Digestion oder, allgemein ausgedrückt, um den Uebergang der Xanthinkörper aus einer gelösten latenten Form in eine gelöste manifeste Form durch ein Ferment. Kochte Salomon nämlich «die bisher nicht berücksichtigten Rückstände[2]) und Filtrate mit Salpetersäure, Schwefelsäure oder Salzsäure und addirte die so erhaltenen sehr grossen Hypoxanthinmengen zu dem freien Hypoxanthin, so ergab es sich (in einem an der Hundeleber angestellten Versuch), dass der Gesammtbestand von Xanthinkörpern nahezu der gleiche geblieben war».

Mit Absicht habe ich einige Zeilen vorher den Ausdruck «latente Form der Xanthinkörper» gebraucht, weil die Annahme störender Substanzen zwar eine sehr naheliegende, aber nicht die einzig mögliche ist. Man könnte sich auch vorstellen, dass es lösliche Zwischenproducte zwischen dem Nuclein und den Xanthinkörpern gäbe, welche erst durch Kochen mit Säuren gespalten werden. Es ist immerhin auffällig, dass die mit Ag-Lösung versetzten Auszüge aus der Hefe B auch nicht

---

[1]) Es ist leider nicht mit Bestimmtheit zu ersehen, ob der Auszug A mit Schwefelsäure gekocht war oder nicht.

[2]) Unter «Rückstände» ist nach persönlicher Mittheilung des Autors nicht das rückständige Lebergewebe zu verstehen, sondern die restirenden wässrigen Auszüge und Fällungen durch Alkohol.

die geringste Neigung zur Abscheidung eines Silberniederschlages zeigten, dass sie durchaus kein opakes Ansehen zeigten, sondern vollkommen klar blieben. Bei künftigen Untersuchungen wird man die Möglichkeit der Existenz derartiger Zwischenstufen im Auge zu behalten haben.

Ich will übrigens nicht unterlassen, darauf hinzuweisen, dass meine Beobachtungen über die Bildung von Leucin und Tyrosin, sowie von Xanthinkörpern etc. in vollem Einklang stehen mit den Angaben Schützenberger's über die Entstehung dieser Substanzen bei der Selbstgährung der Hefe. (Vgl. die Abhandlung von Kossel in dieser Zeitschrift. Bd. V, S. 156.)

III. Welcher Bestandtheil der Hefe ist die Quelle des Zuckers?

Diese Frage soll hier zunächst nur generell beantwortet werden, d. h. nur dahin, ob der Zucker aus präformirten Kohlehydraten abstammt oder vielleicht aus dem Eiweiss abgespalten wird.

Die Beantwortung gestaltet sich ziemlich einfach. Es ist bekannt, dass sich aus der Hefe beim Kochen mit verdünnten Säuren reducirender gährungsfähiger Zucker bildet. Diese Zuckerbildung wird auf die sog. Cellulose bezogen, deren Eigenschaften demnach von denen der eigentlichen Cellulose sehr abweichend sind; wird ja doch sonst allgemein das Kochen mit Schwefelsäure zur Isolirung der Cellulose, zur Befreiung von Amylum angewendet. Ich will hier nicht auf die Frage eingehen, ob ausser der Cellulose nicht noch andere Kohlehydrate an der Zuckerbildung betheiligt sind, jedenfalls ist so viel sicher, dass in dem nach dem Kochen der Hefe mit 5procentiger Schwefelsäure während $3^1/_2$ Stunden bleibenden Rückstand nichts mehr nachzuweisen ist, was irgend mit Cellulose Aehnlichkeit hat: der Rückstand löst sich vielmehr, wie ich mich öfters überzeugt habe, bei einstündigem Kochen mit 3procentiger Kalilauge zu einer wenig trüben Flüssigkeit, die Trübung wiederum ist grösstentheils in Aether löslich.

Gelingt es nun, nachzuweisen, dass Hefe, welche den Process der Autodigestion durchgemacht hat, bei dem Kochen mit Schwefelsäure ceteris paribus constant weniger Zucker liefert, als frische, so ist damit ohne Zweifel festgestellt, dass der Zucker, welcher bei der Digestion entsteht, aus dem präformirten Kohlehydratbestand der Hefe abstammt. Dieses ist nun in der That leicht festzustellen, wie folgende Versuche zeigen:

1. 50 gr. frische Hefe (aus Versuch X) wurden mit 300 cbcm. 5procentiger[1]) Schwefelsäure $3^1/_2$ Stunden am Rückflusskühler gekocht, filtrirt, gründlich nachgewaschen und durch Eindampfen der Waschwässer auf 500 cbcm. gebracht. 5 cbcm. (neutralisirt) gaben bei Bestimmung mit Fehling'scher Lösung 0,0924 CuO = 8,38 gr. Zucker für 100 gr. Hefe.

2. 50 gr. einer anderen Presshefe ebenso behandelt, auf 500 cbcm. gebracht. 5 cbcm. gaben 0,0860 resp. 0,0864, im Mittel 0,0862 CuO = 7,82 gr. Zucker für 100 gr. Hefe.

Im Mittel lieferte also die frische Hefe 8,10% Zucker auf feuchte Substanz bezogen = 27,93% der Trockensubstanz (bei 29% Trockensubstanz in der Hefe).

Dagegen ergab die Behandlung der digerirten Hefe folgende Resultate:

1. Der Rückstand von 100 gr. digerirter Hefe aus Versuch VIII wurde $3^1/_2$ Stunden am Rückflusskühler mit 600 cbcm. 5procentiger Schwefelsäure gekocht, dann ebenso behandelt. 2 cbcm. des auf 500 cbcm. gebrachten Auszuges gaben 0,053 gr. CuO = 6,0 gr. Zucker für 100 gr. Hefe.

2. Die rückständige Hefe von Versuch IX C entsprechend 172 gr. Hefe wurde mit Wasser auf das Volumen von 860 cbcm. gebracht. 5 cbcm. der gut durchgeschüttelten Mischung entsprachen somit 1 gr. digerirter Hefe. Die Mischung wurde in eine Flasche gebracht und nach jedesmaligem heftigem Schütteln 3 Portionen à 250 cbcm. = 50 gr. Heferückstand entnommen.

---

[1]) Unter «5procentiger» Schwefelsäure verstehe ich stets 50 gr. Schwefelsäure mit Wasser zum Volum von 1 L. aufgefüllt.

a) 250 cbcm. = 50 gr. Hefe mit 15 gr. Schwefelsäure und 60 gr. Wasser versetzt (ungefähr entsprechend 300 cbcm. 5procentiger Schwefelsäure auf 50 gr. Hefe), $3^1/_2$ Stunden am Rückflusskühler gekocht, dann filtrirt u. s. w. auf 500 cbcm. 5 cbcm. gaben 0,0617 CuO = 5,6 % Zucker.

b) 250 cbcm. mit 6 gr. Schwefelsäure und 70 cbcm. Wasser (ca. 300 cbcm. 2procentige Schwefelsäure) ebenso behandelt. 5 cbcm. gaben 0,068 CuO = 6,17 % Zucker.

c) 250 cbcm. mit 30 gr. Schwefelsäure und 50 Wasser (ungefähr 300 cbcm. 10procentige Schwefelsäure auf 50 gr. Hefe) u. s. w. 5 cbcm. gaben 0,0633 CuO = 5,74 % Zucker.

Im Mittel sämmtlicher Versuche lieferte somit die digerirte Hefe beim Kochen mit Schwefelsäure 5,88 % Zucker auf feuchte Substanz bezogen oder 20,27 % der Trockensubstanz.

Genuine Hefe lieferte somit 2,22 % der feuchten Substanz oder 7,76 % der Trockensubstanz mehr Zucker, als Hefe, vorher digerirt. Die Differenz ist gross genug, um die Bildung von Zucker aus den Kohlehydraten zu decken, es liegt mithin kein Grund vor, auf die Eiweisssubstanzen zurückzugreifen.

Dasselbe gilt auch für die Selbstgährung der Hefe. Pasteur hat bereits die Ansicht ausgesprochen, dass die Kohlehydrate der Hefe die Quelle des Alkohols und der Kohlensäure bei der Selbstgährung seien, ohne indessen meines Wissens Beweise hierfür beizubringen. Der Nachweis ist leicht zu führen.

100 gr. Hefe (aus Versuch X) wurden mit 100 cbcm. Wasser übergossen und 2 Tage lang der Selbstgährung überlassen, dann filtrirt. Im Filtrat wurde Alkohol durch Destillation constatirt, beim Eindampfen lieferte dasselbe wenig Rückstand, in welchem Pepton und etwas Gummi nachweisbar waren. — Der Rückstand wurde $3^1/_2$ Stunden mit 600 cbcm. 5procentiger Schwefelsäure gekocht. 5 cbcm. gaben bei Gesammtvolumen von 500 cbcm. 0,0912 CuO = 4,14 % Zucker oder 14,27 % der Trockensubstanz.

Die Differenz gegenüber der genuinen Hefe beträgt 3,96 % der feuchten Substanz oder 13,66 % der Trockensubstanz.

Es steht also fest, dass die Quelle der Zuckerbildung bei der Autodigestion in den Kohlehydraten der Hefe zu suchen ist. Sehr viel schwieriger gestaltet sich die Beantwortung der Frage, auf welche Kohlehydrate die Zuckerbildung zu beziehen ist. Bei dem Versuch, diese Frage zu beantworten, kam ich zu der Ueberzeugung, dass ihre Beantwortung nicht möglich ist ohne eine erneute gründliche Untersuchung der Kohlehydrate der Hefe überhaupt, welche einer besonderen Arbeit vorbehalten bleiben mag. Als wahrscheinlich kann ich es bezeichnen, dass die Quelle des Zuckers nicht die sog. Cellulose ist, sondern das Hefegummi, es bleibt indessen noch genauer zu untersuchen, ob nicht, wie Nägeli und Löw annehmen[1]), das Gummi selbst aus der Cellulose hervorgehen kann.

Es bedarf kaum eines Hinweises darauf, in welcher Beziehung meine Beobachtungen über die Zuckerbildung in der Hefe zur Selbstgährung derselben stehen. Die Zuckerbildung bei der Digestion ist die erste Etappe der Selbstgährung: auch bei der Selbstgährung entsteht ohne Zweifel derselbe Zucker, aber es ist nicht möglich, ihn nachzuweisen, weil er sofort weiter zerfällt. Das Chloroform lässt den ersten Theil des Vorganges bestehen, hebt den zweiten dagegen auf.

Es ist gewiss auch weiterhin in allgemein biologischer Beziehung nicht ohne Interesse, dass in einem einzelligen Organismus neben dem Invertin noch 3 andere Fermente nachweisbar sind. Fokker[2]) hält allerdings die unter dem Einfluss des Chloroformwassers in zerkleinerten Geweben vor sich gehenden Fermentationsvorgänge ganz allgemein nicht für Enzymwirkungen, sondern für Protoplasmawirkungen, ich glaube indessen nicht, dass er damit im Recht ist; ich gedenke auf diesen Punkt noch einmal zurückzukommen.

---

[1]) Annal. der Chem., Bd. 193, S. 322.

[2]) Centralbl. f. d. med. Wiss., 1888, S. 417.

Um zum Schluss meine Beobachtungen kurz zusammenzufassen, so ist durch dieselben Folgendes constatirt worden.

Bei der Digestion von Hefe mit Chloroformwasser (1 : 10) bei Lufttemperatur findet Selbstgährung nicht statt, dagegen enthält die Digestionsflüssigkeit nach einigen Tagen Zucker, Leucin und Tyrosin, Xanthinkörper. Die Bildung dieser Körper beruht auf einem fermentativen Process, denn sie findet nicht statt in genau ebenso angestellten Parallelversuchen, bei denen die Hefe vorher sterilisirt war. Da die Lebensäusserungen der Hefe bei Aufbewahrung in Chloroformwasser erlöschen, eine solche Hefe weder Gährung zu bewirken, noch sich zu vermehren im Stande ist, muss man annehmen, dass die genannten Processe auf der Wirkung eines löslichen Fermentes — Enzym's — beruhen.

Der Zucker, welcher bei dieser Fermentation entsteht, bildet ein Phenylhydrazinderivat vom Schmelzpunkt 204—205, ist reducirend, schnell gährend, linksdrehend. Die Quantität des Zuckers betrug im Mittel von 11 Versuchen 6,48 % des Trockengewichtes der Hefe, im Minimum 4,24 %, im Maximum 8,81 %. Der Zucker geht aus dem Kohlehydratbestand der Hefe hervor. Auch bei der Selbstgährung ist eine Verminderung der Kohlehydrate nachweisbar.

Auf die Xanthinkörper wirkt die Fermentation in doppelter Weise ein: einerseits wird fast alles Nuclein der Hefe gespalten, andererseits wird das Xanthin direct fällbar durch Silberlösung, während es bei vorgängiger Sterilisirung der Hefe in geringerer Quantität im Auszug vorhanden ist und in diesem nicht direct fällbar durch Silberlösung, sondern erst nach dem Kochen mit Säuren.

Studien über den Stoffwechsel der Bierhefe.

Von

Dr. Ladislaus v. Udránszky.

I. Beiträge zur Kenntniss der Bildung des Glycerins bei der alkoholischen Gährung.

(Der Redaction zugegangen am 6. April 1889.)

Wie weit auch bereits die wissenschaftliche Forschung — besonders in den letzten Jahren — in der Erkenntniss der Gährungsprocesse und Fermentationen vorgeschritten ist, so fand man doch für manche hierbei in Betracht kommende Punkte bisher keine Erklärung. So z. B. sind wir nur noch bei den allerwenigsten Gährungen im Stande, von den in der Gährflüssigkeit befindlichen Stoffen die einen als Spaltungsproducte des Gährsubstrates, die anderen als specifische Stoffwechselproducte der Microorganismen von einander zu unterscheiden. In den meisten Fällen ist es sehr schwer, die Bildung der Gährungsproducte von dem eigentlichen Stoffwechsel der, die Gährung bedingenden Lebewesen, oder noch mehr, den Stoffwechsel des betreffenden Microorganismus von seiner sonstigen physiologischen Thätigkeit streng zu trennen. Die Veränderungen, die mit dem gährungserregenden Microorganismus vor sich gehen, sobald derselbe das eben in der Gährung liegende Optimum seiner Lebensbedingungen nicht mehr geniesst, erschweren es bedeutend, den Stoffwechsel der Gährungserreger genau zu studiren.

In manchen Fällen gibt der Vergleich der chemischen Constitution des Gährsubstrates mit der der Gährungsproducte einen Anhaltspunkt für eine befriedigende Differenzirung zwischen den Producten, welche zwar durch eine Einwirkung der Lebewesen auf das Gährsubstrat entstanden sind, aber nicht zum eigentlichen Stoffwechsel der Zellen hingehören, und zwischen den Producten, welche aus dem Stoffumsatz der gährungserregenden Zellen selbst hervorgegangen sind. Bei den, durch pathogene Bacterien bedingten Zersetzungen dürfen wir z. B. die sogenannten «Toxine» direct als Stoffwechselproducte der specifischen Microorganismen ansprechen, da diese Substanzen nur dann entstehen, wenn solche Pilze in zersetzungsfähigen Substraten vegetiren. Bei manchen Verwesungsprocessen können wir andererseits einzelne Producte direct als solche erkennen, die zu dem eigentlichen Stoffwechsel des Microorganismus nicht hingehören. Setzt man z. B. Paraoxybenzoësäure der Einwirkung von Fäulnissbacterien aus, so bildet sich Phenol und Kohlensäure. Diese Stoffe sind keineswegs Stoffwechselproducte der Bacterien selbst; sie verdanken vielmehr ihre Entstehung einer, durch die Einwirkung der Pilze bedingten chemischen Spaltung. Das Gleiche gilt für die aromatischen Producte, die aus der Fäulniss von Eiweisskörpern hervorgehen: Indol, Scatol, Kresol, Tyrosin etc. Diese Substanzen entstehen durch secundäre, neben dem eigentlichen Stoffwechsel der Microorganismen einherlaufende Processe, die nur insofern mit dem Gährungserreger im Zusammenhange stehen, dass dieser letztere im Stande ist, durch seine Lebensthätigkeit solche Umsetzungen einzuleiten und weiterzuführen. Nur durch die exacte chemische Untersuchung der Gährungsproducte — im Vergleiche mit der chemischen Zusammensetzung der Gährsubstrate — wird es — bei den Gährungsprocessen überhaupt — möglich sein, den Stoffwechsel des Gährungserregers von denjenigen Processen zu unterscheiden, die zwar durch die Lebensthätigkeit des betreffenden Microorganismus bedingt werden, aber nicht streng zu dem Stoffumsatze im Zellenleibe hingehören.

Pasteur hat in seinen grundlegenden Arbeiten[1]) über die alkoholische Gährung den Nachweis geführt, dass der Zucker nicht quantitativ in Kohlensäure und Alkohol zerfällt, sondern dass neben diesen Stoffen auch noch secundäre Gährungsproducte — hauptsächlich Glycerin und Bernsteinsteinsäure — entstehen, und zwar im Durchschnitt etwa 2,5—3,6 % Glycerin und 0,4—0,7 % Bernsteinsäure vom Gewicht des vergohrenen Zuckers. Die Menge dieser Nebenproducte ist zwar Schwankungen unterworfen, doch hält Pasteur diese Schwankungen für nicht genug gross, um der Annahme einer Zugehörigkeit der Entstehung dieser Substanzen zur alkoholischen Gährung im Wege stehen zu müssen. Eine solche Annahme gewinne weiterhin durch die verhältnissmässig grosse Constanz im Auftreten dieser Producte noch mehr an Wahrscheinlichkeit.

Pasteur bringt also die Bildung des Glycerins und der Bernsteinsäure in keinen engeren Zusammenhang mit der Hefezelle, wie die Bildung von Kohlensäure und Alkohol. Er spricht sich eher dahin aus, dass Glycerin und Bernsteinsäure nicht aus der Substanz der Hefe, sondern aus dem Zucker entstehen. In der experimentellen Erfahrung, dass selbst bei Anwendung ganz geringer Hefemengen zur Gährung stets mehrere Procente des verbrauchten Zuckers in Form von Glycerin und Bernsteinsäure wiedergefunden werden können, sieht Pasteur einen weiteren Beweis für die Ansicht, dass die Hefezelle bei der Bildung dieser Substanzen nicht anders betheiligt ist, wie bei der Bildung von Kohlensäure und Alkohol. Die für die Hefezelle characteristische physiologische Thätigkeit besteht somit in der Bildung von Kohlensäure, Alkohol, Glycerin und Bernsteinsäure. Kann sich die Hefe keinen Zucker verschaffen, so führt sie diese physiologische Thätigkeit auf Kosten ihrer eigenen Substanz weiter, falls ihr die sonstigen Lebensbedingungen — besonders die nothwendige Temperatur und der nöthige Wassergehalt — nicht fehlen.

---

[1]) Annales de chimie et de physique. Dritte Folge. LVIII. Band, 1860, S. 323.

Nach Pasteur's Anschauung sind also Glycerin und Bernsteinsäure gerade so Gährungsproducte, ebenso in Folge einer durch die physiologische Thätigkeit der Hefezellen bedingten Spaltung entstanden, wie die Kohlensäure und der Alkohol.

Manche Erfahrungen sprechen aber eher dafür, dass die Bildung von Glycerin und Bernsteinsäure vielleicht doch auch in den Kreis der, bei dem Stoffwechsel der Hefezelle selbst verlaufenden Processe mit hingehört.

Nimmt man an, dass die Hefezellen den Zucker in sich aufnehmen, und ihn dann innerhalb ihres Protoplasmas in Kohlensäure, Alkohol, Glycerin und Bernsteinsäure zerlegen, so ist es schwer einzusehen, warum relativ viel mehr Glycerin und Bernsteinsäure aus dem Zucker neben der Kohlensäure und dem Alkohol entstehen soll, wenn bei der Gährung nur wenig Hefezellen betheiligt sind, als in den Fällen, wo das Verhältniss der Hefe zum Zucker für die Gährung günstiger ist. Ist die Bildung des Glycerins und der Bernsteinsäure nur auf eine chemische Spaltung des Zuckers zurückzuführen, so findet man schwierig eine Erklärung dafür, warum der Zucker bei der Spaltung, ausser der Kohlensäure, das eine Mal mehr und das andere Mal weniger Glycerin und Bernsteinsäure liefert. Die Erklärung dieser, schon Pasteur bekannt gewordenen experimentellen Erfahrung wird hingegen eine viel leichtere, wenn man die Bildung von Glycerin und Bernsteinsäure mit der Hefesubstanz selbst in näheren Zusammenhang bringt. Es ist dann leicht zu verstehen, dass je länger eine Gährung dauert und je länger die Hefezellen also in der Flüssigkeit verweilen, sie auch um so mehr Stoffwechselproducte an dieselbe abgeben können.

Bei der Untersuchung des Stoffwechsels der Bierhefe wird eine Schwierigkeit dadurch gegeben, dass — wie es schon Pasteur bewiesen hat — die Hefezellen, wenn ihre Ansprüche, Temperatur und Feuchtigkeit betreffend, nur einigermassen erfüllt sind, der sogenannten «Selbstvergährung» unterliegen. Kohlensäure, Alkohol, Glycerin und Bernsteinsäure entstehen hierbei ebenso, wie dann, wenn die Hefezellen sich in einer zuckerhaltigen Flüssigkeit befinden.

Es ist hier nicht am Platze, darüber zu discutiren, ob der Process der Selbstvergährung thatsächlich identisch ist mit den Processen, welche durch die Hefezelle und in ihr verlaufen, wenn die Hefe in eine zuckerhaltige Flüssigkeit gesäet, die günstigsten Bedingungen für ihre vegetativen Functionen vorfindet. Es kommt mir vielmehr darauf an, an der Hand einiger einfacher Versuche zu zeigen, dass die Hefe Glycerin auch dann zu produciren vermag, wenn ihr Stoffwechsel ein sehr langsamer ist, sie keinen assimilirbaren Kohlenstoff zur Nahrung hat, und wenn auch sonst die Möglichkeit einer alkoholischen Gährung nicht vorliegt.

Die Ganter'sche Bierbrauerei hierorts war so freundlich, mir die nöthige Menge untergähriger Bierhefe zu meinen Untersuchungen zu überlassen. Diese Hefe war nach dem Ablassen aus den Gährbottichen, in grossen Gefässen im Keller, unter mit Eis gekühltem Wasser aufbewahrt worden. Zur Controlle ihrer Reinheit und Lebensfähigkeit habe ich im hygienischen Institut der hiesigen Universität aus der Hefe Culturen angelegt. Herrn Prof. Schottelius danke ich auch an dieser Stelle für seine Freundlichkeit, mit welcher er mir diese Untersuchungen möglich gemacht hat.

Die Hefe zeigte auf Kartoffelscheiben ein sehr kräftiges Wachsthum; am 3.—4. Tage nach der Impfung hatte sich schon ein üppiger Rasen auf den Kartoffeln gebildet. Von 6 Gelatineplattenculturen waren nur auf einer einzigen, ausser den Hefecolonien auch noch einige andere Pilzansiedelungen zu sehen[1]).

---

[1]) Diese bestanden erstens aus rundlichen, schiefergrauen, etwas über die Gelatineoberfläche ragenden, langsam wachsenden, am 4. Tage in der bei 18° C. gehaltenen Cultur etwa stecknadelkopfgross gewordenen Colonien einer, mit Fuchsin schlecht, mit Methylviolett und nach der Gram'schen Methode dagegen gut färbbaren, die Gelatine nicht verflüssigenden Stäbchenart. Neben diesen waren dann noch mohnenkorn- bis linsengrosse, schmutziggraue, mit zerrissenen Rändern versehene, am 4. Tage bereits zerfliessende Colonien einer zweiten, mit Fuchsin sehr gut färbbaren Stäbchenart zu sehen. Die Bacterien aus den erstgenannten Colonien stellten schmächtige, mit etwas scharf abgeschnittenen Endflächen versehene, der Grösse nach den Tuberkelbacillen etwa gleich

Aus den Ergebnissen der bacteriologischen Untersuchung durfte gefolgert werden, dass die Bierhefe ausser den Hefezellen nur spärliche, entwickelungsfähige Keime enthielt. Aus dem Umstande, dass die Hefe mit Hefewasser versetzte 4procentige Zuckerlösungen schnell vergährte, durfte weiterhin geschlossen werden, dass die Hefe entwickelungsfähig und kräftig war.

Die Hefe wurde mit Wasser sorgfältig ausgewaschen, und dann zwischen reinen Tüchern ausgepresst. Die so gereinigte Hefe war zuckerfrei; sie enthielt 33,355 % trocknen Rückstand.

Da die Hefe zu Untersuchungen über die Bildung von Glycerin dienen sollte, so musste noch bestimmt werden, ob und wie viel Glycerin in der Hefe enthalten war. Es wurden deshalb 756,5 gr. der Hefe (entsprechend einem trocknen Rückstande von 252,33 gr.) mit grossen Portionen warmen Alkohols extrahirt, der alkoholische Auszug verdampft, der Rückstand in warmem Wasser aufgenommen (wobei die Fette ungelöst zurückblieben), der wässerige Auszug zum Zurückhalten der Kohlehydrate mit Kalkmilch versetzt und zur Syrupdicke eingedampft. Der Syrup wurde dann mit einem Gemisch von 1 Th. wasserfreien Alkohols und $1^1/_2$ Th. wasserfreien Aethers ausgekocht, der alkoholisch-ätherische Auszug warm filtrirt und verdunstet. Der Rückstand wurde in warmem Wasser gelöst, die Lösung filtrirt. Zur Bestimmung des Glycerins in diesem wässerigen Auszug kam die Diez'sche

---

stehende Stäbchen dar. Sie zeigten keine Eigenbewegung. Die Stichculturen (in Gelatine) entwickelten sich bei 18° C. sehr langsam, und stellten am 7.—8. Tage einen dünnen, mit krümeligen grauen Knötchen dicht besetzten Stichcanal dar. Die Bacterien aus den zweitgenannten Colonien waren kurze, dicke Stäbchen mit abgerundeten Endflächen. Sie zeigten mässige Eigenbewegung. Die Stichculturen (in Gelatine) entwickelten sich recht rasch; sie fingen schon am 3. Tage an, sich zu verflüssigen, und zwar am stärksten ohngefähr in der Mitte des Stichcanals. Beide Bacterienarten konnten auch auf Kartoffeln gut übertragen werden. Die erste Art wuchs langsam, und zeigte einen mattgrauen, trockenen Rasen. Die zweite Art wuchs hingegen auf den Kartoffelscheiben gleichfalls recht rasch, und bildete einen feuchten, gelblich gefärbten Rasen.

Methode[1]) in Anwendung. Der wässerige Auszug (**80** cbcm.) wurde mit **5** cbcm. Benzoylchlorid und **40** cbcm. **10**procentiger Natronlauge unter sorgfältiger Kühlung des Gefässes bis zum Verschwinden des Geruches vom Benzoylchlorid kräftig durchgeschüttelt, und dann einige Stunden stehen gelassen. Der Niederschlag wurde am Filter gesammelt, mit Wasser gewaschen und bei **100°** C. getrocknet. Die geschmolzene Masse wurde in warmem Petroläther gelöst, die Lösung eingeengt, und krystallisiren gelassen. Nach dem Verdunsten des Petroläthers haben sich weisse Nadelbüscheln ausgeschieden, bestehend aus krystallinischen Benzoësäureestern des Glycerins. Die krystallinische Masse schmolz bei **71—73°** C. Ihr Gesammtgewicht betrug **0,5184** gr. Legt man den Berechnungen die Diez'schen Angaben zu Grunde (**0,385** gr. Glycerinbenzoësäureestergemenge entsprechen **0,1** gr. Glycerin), so entsprechen **0,5184** gr. Estergemenge **0,1346** gr. Glycerin. Um übrigens einen noch stricteren Beweis dafür zu gewinnen, dass thatsächlich Benzoësäureester des Glycerins vorlagen, habe ich auch eine Elementaranalyse ausgeführt, die folgende Zahlen ergab:

0,1784 gr. der im Exsiccator getrockneten Substanz lieferten **0,4652** gr. CO_2 und **0,0824** gr. H_2O.

C	71,11 %,
H	5,13 %.

Berechnet für Glycerindibenzoat ($C_3H_6O_3(C_7H_5O)_2$):

C	204	68,00 %,
H	16	5,33 %,
O	80	26,66 %,
		99,99.

Berechnet für Glycerintribenzoat ($C_3H_5O_3(C_7H_5O)_3$):

C	288	71,28 %,
H	20	4,95 %,
O	96	23,76 %,
		99,99.

Die Analyse stimmt also mit Werthen überein, die von einem Tribenzoat des Glycerins erfordert werden. Es darf

---

1) Diese Zeitschr., Bd. XI, S. 472.

hiernach aus der Analyse gefolgert werden, dass reine Benzoësäureester des Glycerins vorlagen. Die Hefe enthielt also Glycerin (0,053 %), und zwar, da sie vorher mit Wasser ausgewaschen wurde, wahrscheinlich in den Zellen eingeschlossen[1]).

Mit der Hefe wurden nun folgende Versuche ausgeführt:

412,6 gr. der Hefe (entsprechend einem trocknen Rückstande von 137,62 gr.), die 0,053 % = 0,0729 gr. Glycerin enthielten, wurden in 1½ Liter Wasser zertheilt, zum Wasser dann langsam, unter fortwährender Rührung so viel Alkohol zugethan, dass die Flüssigkeit schliesslich 12 % Alkohol enthielt, das Ganze alsdann bei 16—18° C. 23 Tage lang stehen gelassen. Flüssigkeit und Hefe wurden nach Ablauf dieser Zeit in der Weise auf Glycerin bearbeitet, wie es bei der Bestimmung des Glycerins in der frischen Hefe beschrieben wurde. Die Ausbeute an Glycerinbenzoësäureestern (aus Petroläther umkrystallisirt) betrug 0,607 gr. Diese Menge entspricht 0,1576 gr. Glycerin. Es sind also 0,0847 gr. Glycerin neugebildet worden; die Vermehrung des Glycerins betrug hiernach 116,05 %.

Im zweiten Versuch wurden 734,7 gr. Hefe (entsprechend einem Trockenrückstande von 245,06 gr.), die 0,053 % = 0,1298 gr. Glycerin enthielten, gleichfalls in 1½ Liter Wasser zertheilt, die Flüssigkeit mit 6 % Alkohol allmälig versetzt und das Ganze dann bei 16—18° C. 12 Tage lang stehen gelassen. Nach Ablauf dieser Zeit wurden Flüssigkeit und Hefe auf Glycerin verarbeitet. Die Ausbeute an Glycerinbenzoësäureestern (aus Petroläther umkrystallisirt) betrug 1,1861 gr., entsprechend 0,3081 gr. Glycerin. Es sind also 0,1783 gr. Glycerin neugebildet worden; die Vermehrung des Glycerins betrug hiernach 137,36 %.

Im dritten Versuch wurden 407,2 gr. Hefe (entsprechend 135,82 gr. trocknem Rückstande), die 0,053 % = 0,0715 gr.

---

[1]) Nägeli hat zuerst darauf hingewiesen, dass die Hefe Glycerin enthält.

Glycerin enthielten, in $1^1/_2$ Liter Wasser zertheilt, und ohne Zusatz von Alkohol bei 16—18° C. 23 Tage lang stehen gelassen. Nach Ablauf dieser Zeit wurden Flüssigkeit und Hefe auf Glycerin verarbeitet. Die Ausbeute an Glycerinbenzoësäureestern (aus Petroläther umkrystallisirt) betrug 0,0931 gr., entsprechend 0,0241 gr. Glycerin. Von dem ursprünglich in der Hefe enthaltenen Glycerin gingen also im Lauf des Versuches 0,0474 gr. verloren; die Abnahme des Glycerins betrug hiernach 286,3 %.

Die Flüssigkeit hatte im Lauf des letzten Versuches einen stark faulen Geruch bekommen, und war schliesslich von einer recht dicken Schimmeldecke überzogen. Die Hefe war weniger undurchsichtig und etwas zerfliesslich geworden. Ausserdem ist noch zu erwähnen, dass bei der Benzoylirung der wässerigen Lösung von dem Rückstande des alkoholisch-ätherischen Auszuges neben den Benzoësäureestern des Glycerins auch noch anderweitige Benzoylverbindungen in den Niederschlag mit hineingingen. Sie waren aber in Petroläther unlöslich, und konnten daher von den Glycerinbenzoësäureestern leicht getrennt werden. Auf eine nähere Erörterung dieser Substanzen soll hier nicht eingegangen werden; es mag hier nur so viel erwähnt sein, dass diese Benzoylverbindungen bis zu 7,8 % Stickstoff enthielten. Die Elementaranalysen ergaben aber sonst keine Werthe, aus denen irgend welche Anhaltspunkte für die Erkennung der richtigen Zusammensetzung zu gewinnen gewesen wären. Es ist wahrscheinlich, dass ein Gemenge von wenigstens zwei verschiedenen Verbindungen vorlag; doch gelang es nicht, aus ihnen einzelne Substanzen mit constantem Schmelzpunkt zu isoliren. Ebenso wenig gelang es, durch die Spaltung der Benzoylverbindungen mit concentrirter Salzsäure (und nachheriger Entfernung der frei gewordenen Benzoësäure durch Ausschütteln mit Aether) bearbeitbare Producte zu gewinnen. Da in den ersten zwei Versuchen, bei der Benzoylirung des wässerigen Auszuges ähnliche Substanzen nicht bemerkt wurden, so ist wohl der Schluss berechtigt, dass die Entstehung dieser Stoffe durch die Fäulniss der Hefe bedingt war.

In diesem letzten Versuche haben sich — besonders gegen das Ende des Versuches zu — Gasblasen aus der Flüssigkeit entwickelt. Es trat hierbei der Geruch von Ammoniak und Schwefelwasserstoff auf. Bei den ersten Versuchen war hingegen keine Gasentwickelung in der Flüssigkeit bemerkbar gewesen. Eine kleine Probe der Hefe, nach dem Abschluss der ersten zwei Versuche aus der Flüssigkeit herausgeholt, vergährte den Zucker ebenso gut, wie vor dem Versuch. Sie zeigte auch das gleiche üppige Wachsthum auf Kartoffelscheiben. Die Hefe war im Lauf beider Versuche durch verschiedentliche Spaltpilz- und Schimmelkeime verunreinigt geworden; hierfür sprach die Entwickelung recht zahlreicher Bacterien-, und einiger Schimmelpilzcolonien auf der Gelatineplatte. Sie schien jedoch trotz dieser Verunreinigungen von ihrer Lebensfähigkeit kaum etwas eingebüsst zu haben. Sie wurde auf den Kartoffelculturen — wenigstens bis zum 6. Tage — durch anderweitige, nebenher sich entwickelnde Pilze nicht unterdrückt. Im dritten Versuch, wo die Hefe nur mit Wasser, ohne Zusatz von Alkohol, 23 Tage lang stehen gelassen worden ist, hat sie ihre Fähigkeit, Gährung zu erregen, beinahe vollständig eingebüsst. Sie wuchs auch recht dürftig auf den Kartoffelscheiben, und wurde sehr bald durch andere Pilzarten überholt.

Die Hefe hat in allen diesen Versuchen keinen Zucker für ihre Ernährung zur Verfügung gehabt. Sie war überhaupt frei von löslichen Stoffen, die ihr an und für sich die Assimilation von Kohlenstoff möglich gemacht hätten. Das neugebildete Glycerin konnte nur aus der Substanz der Hefe selbst entstanden sein. Es muss also entweder durch den Stoffwechsel der Hefe gebildet worden sein, oder es ist aus Processen hervorgegangen, die mit dem Zerfall von Hefezellen verknüpft sind.

Hätte die Hefe an ihrer Substanz in der Weise gezehrt, dass sie, auf Kosten dieser, Zucker gebildet und den dann in Kohlensäure, Alkohol, Glycerin und Bernsteinsäure gespalten

hätte, so wäre nothwendigerweise eine reichliche Entwickelung von Kohlensäure zu bemerken gewesen. Da dies nicht der Fall war, so ist — bei den ersten zwei Versuchen — an eine Selbstvergährung gar nicht zu denken. Es geht also aus diesen Versuchen hervor, dass die Bildung von Glycerin[1]) mit der alkoholischen Gährung nicht unumgänglich nothwendigerweise zusammenhängt, indem eine Production von Glycerin auch dann statt hat, wenn die Möglichkeit einer alkoholischen Gährung nicht vorliegt. Die Bildung von Glycerin steht vielmehr in naher Beziehung zu dem Stoffumsatze in der Hefezelle.

Je länger die Hefe mit irgend einer Flüssigkeit in Berührung bleibt, um so mehr Glycerin kann sie — in toto — an die Flüssigkeit abgeben. Es kann daher um so mehr Glycerin in der Flüssigkeit vorgefunden werden, falls es vor weiteren Zersetzungen (vor Fäulniss) geschützt wird[2]).

Die folgenden Versuche sollen hierfür zur Illustrirung dienen:

1178,4 gr. käuflicher Presshefe (entsprechend einem trocknen Rückstande von 691,01 gr.), die 0,017% = 0,1174 gr. Glycerin (auf den Trockenrückstand berechnet) enthielten[3]), wurden am 4. December 1887 in einer geräumigen Flasche in 2 Liter Wasser zertheilt. Die Flüssigkeit wurde mit 12% Alkohol versetzt, und bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Der Versuch wurde am 29. Mai 1888 abgebrochen. Eine Probe der Hefe ging mit Zucker Gährung ein; sie wuchs auch auf Kartoffelscheiben, wenn auch erheblich langsamer,

[1]) Ob die Bildung der Bernsteinsäure in ähnlicher Weise beurtheilt werden kann, darüber sollen gleichfalls Versuche angestellt werden.

[2]) Geschieht dies nicht, so nimmt die Menge des Glycerins recht schnell ab, wie z. B. im dritten Versuch. Bei der Wahl der Versuchsbedingungen wurde daher (in den ersten zwei Versuchen) auch diesem Umstande Rechnung getragen.

[3]) Die Hefe vergährte den Zucker kräftig, und wuchs genügend rasch auf Kartoffelscheiben. Sie enthielt grosse Mengen von Bacterien. Eine Stärkebestimmung ergab 67,42% Stärke.

wie vor dem Versuch. Flüssigkeit und Hefe wurden in der schon beschriebenen Weise auf Glycerin verarbeitet. Die Ausbeute an Glycerinbenzoësäureestern (aus Petroläther umkrystallisirt) betrug 1,2378 gr., entsprechend 0,3215 gr. Glycerin. Es sind also während des Versuches 0,2041 gr. Glycerin neugebildet worden. Die Vermehrung des Glycerins betrug hiernach 173,85 %.

1252,7 gr. derselben Presshefe (entsprechend einem trocknen Rückstande von 734,58 gr.), die 0,017 % = 0,1248 gr. Glycerin (auf den Trockenrückstand berechnet) enthielten, wurden gleichfalls am 4. December 1887 in 2 Liter 12procentigen Alkohols zertheilt, und mit diesem bei Zimmertemtemperatur stehen gelassen. Der Versuch wurde am 24. Januar 1889 abgebrochen. Die Hefe schien am Ende des Versuches bedeutend abgeschwächt, oder gar abgestorben zu sein, denn sie vergährte den Zucker nicht mehr, und wuchs nicht auf Kartoffelscheiben. Bei der Verarbeitung der Flüssigkeit und Hefe auf Glycerin betrug die Ausbeute an Glycerinbenzoësäureestern (aus Petroläther umkrystallisirt) 2,1875 gr., entsprechend 0,5681 gr. Glycerin. Es sind also während des Versuches 0,4433 gr. Glycerin neugebildet worden. Die Vermehrung des Glycerins betrug hiernach 355,2 %.

Die Hefe zeigte in beiden Versuchen keine Spur von Fäulnisserscheinungen. Ihr Aussehen hat sich insofern verändert, dass die Hefe zerfliesslich wurde, und ihre ursprüngliche matt graugelbe Farbe in ein helleres Gelb überschlug. Dies war besonders in der zweiten Portion zu bemerken, welche mit dem 12procentigen Alkohol über 13 Monate lang gestanden hat. Da am Ende des Versuches die Hefe so gut wie abgestorben war, so wird dadurch gezeigt, dass beim Absterben der Hefezellen Glycerin freigemacht wird[1]), während eine Bildung von Kohlensäure hierbei nicht stattfindet.

---

[1]) Brefeld (Landwirthsch. Jahrb., III, IV, 1874, 1875) ist der Meinung, dass das Glycerin beim Absterben der Hefe entsteht, und sich bei der Gährung gar nicht, oder doch nur in geringerer Menge bildet als es Pasteur angenommen hat.

Was die Frage der Entstehung des Glycerins anlangt, so hat man in erster Linie an einen Zerfall des Lecithins zu denken, von welchem Hoppe-Seyler nachgewiesen hat, dass es einen constanten Bestandtheil der Hefe bildet. Es ist sehr wahrscheinlich, dass die Quelle des beim Stoffwechsel, oder beim Zerfall der Hefezellen frei werdenden Glycerins in ihrem Lecithingehalt zu suchen ist.

Es ist nicht zu verkennen, dass die aus dem Organismus der Hefe entstandenen Glycerinmengen verhältnissmässig sehr gering sind. Sie bilden nur einen kleinen Bruchtheil desjenigen Glycerins, welches mit Hülfe derselben Hefemengen bei der Vergährung von grösseren Quantitäten Zucker unter günstigen Bedingungen erhalten werden kann. Dabei ist freilich der Umstand in Betracht zu ziehen, dass der Stoffwechsel der Hefe, unter einem Alkohol von 6—12 % und ohne Zucker, sehr geringfügig bleibt. Die Möglichkeit ist nicht ausgeschlossen, dass unter anderen Bedingungen die Hefe allein auch wesentlich grössere Mengen von Glycerin zu produciren vermag.

Freiburg i. Br., Laboratorium des Prof. Baumann.

Ueber den Futtersaft der Bienen.

II. Abhandlung.

Von

Dr. Adolf von Planta.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaction zugegangen am 17. April 1889.)

Im 12. Bande dieser Zeitschrift, S. 327—354, sind die Resultate veröffentlicht worden, welche ich bei der chemischen Untersuchung des Futtersaftes der drei Bienenlarvenarten (Königinnen, Drohnen und Arbeiterinnen) erhalten habe. Nach den von mir ausgeführten Analysen finden sich wesentliche Unterschiede in der Zusammensetzung des Futterbreies der Drohnenlarven, je nach dem Alter der letzteren; die unter 4 Tage alten Larven erhalten ein Futter, welches weit reicher an stickstoffhaltigen Stoffen und an Fett, weit ärmer an Zucker ist, als dasjenige, welches der über 4 Tage alten Larve gereicht wird. Bei den Königinlarven dagegen erwies sich der Futtersaft während der ganzen Larvenperiode als gleich zusammengesetzt. Bei den Arbeiterlarven vermochte ich aus Mangel an Material die getrennte Untersuchung des in den verschiedenen Altersstufen gereichten Futtersaftes damals nicht auszuführen. Diese Lücke habe ich durch eine neue Untersuchung auszufüllen gestrebt.

Zur Gewinnung des erforderlichen Materials wurden 2000 Zellen unter 4 Tage alter Arbeiterlarven, und 2000 solcher über 4 Tage alt, entleert. Nachdem die Larven entfernt worden waren, wurde der übrig bleibende Futterbrei in Weingeist geworfen. Dabei lieferte jede Zelle freilich nur

ein Futterbreiquantum vom Volumen eines Stecknadelknopfes, und diese übrig bleibende Substanz enthielt noch etwa 70 % Wasser. Kein Wunder daher, dass ich für meine Untersuchung den Inhalt von 4000 Zellen brauchte. Die Gewinnung des Futterbreies war eine höchst mühsame Arbeit. Dieser Arbeit unterzogen sich, wie schon früher, so auch dieses Mal wieder mit aufopfernder Gefälligkeit und lebendigem Interesse Herr Wyndlin und dessen Tochter in Kerns, Ct. Obwalden.

Der in Weingeist geworfene Futterbrei verwandelt sich darin allmälig in eine harte, zerreibliche Masse, während gleichzeitig einige Bestandtheile desselben in Lösung gehen. Der unlösliche Rückstand und die Lösung wurden getrennt untersucht; aus den dabei erhaltenen Ergebnissen wurde die Zusammensetzung des ganzen Futterbreies berechnet. Die Methoden, nach denen die Analysen ausgeführt wurden, stimmen vollkommen mit den früher angewendeten überein; ich kann also hinsichtlich derselben auf meine erste Abhandlung verweisen. Die Resultate, zu denen ich dabei gelangte, stelle ich in der folgenden Tabelle mit den früher für den Königinnen- und Drohnen-Futterbrei erhaltenen zusammen:

Futterbrei der 3 Larvenarten: der Königin, Drohne und Arbeitsbiene.

Die Trockensubstanz enthält:

	1. Königin. Mittel.	2. Drohnen unter 4 Tage.	3. Drohnen über 4 Tage.	4. Drohnen. Mittel.	5. Arbeiterinnen unter 4. Tage.	6. Arbeiterinnen über 4 Tage.	7. Arbeiterinnen. Mittel.
Stickstoffhaltg. Stoffe . .	45,14 %	55,91 %	31,67 %	43,79 %	53,38 %	27,87 %	40,62 %
Fett	13,55 %	11,90 %	4,74 %	8,32 %	8,38 %	3,69 %	6,03 %
Glycose . . .	20,39 %	9,57 %	38,49 %	24,03 %	18,09 %	44,93 %	31,51 %

Aus Colonne 5 und 6 der vorstehenden Tabelle ergibt sich, dass auch die Arbeiter- ebenso wie die Drohnen-Larven in den beiden Altersstufen einen ungleich zusammengesetzten Futterbrei erhalten; den über 4 Tage alten Larven wird ein,

an Eiweissstoffen und an Fett weit ärmeres, an Zucker dagegen weit reicheres Futter gegeben, als den jüngeren Larven. Man darf wohl annehmen, dass der höhere Zuckergehalt jenes Futters durch Honigzusatz hergestellt wird; für diese Annahme spricht auch die gelbliche Farbe desselben. Zu erwähnen ist noch, dass nach der mikroskopischen Untersuchung der Futterbrei der Arbeiterlarven auch in der zweiten Altersstufe keinen Zusatz von unverdautem Pollen erhält, während solcher sich in dem Futter der über 4 Tage alten Drohnenlarven in beträchtlicher Menge vorfindet.

Auf Grund der in meiner ersten Abhandlung mitgetheilten Versuchsergebnisse habe ich es für wahrscheinlich erklärt, dass die Bienen dem Futterbrei, je nach dem Nährzweck, welchen derselbe erfüllen soll, eine bestimmte Zusammensetzung geben. Es liegt auf der Hand, dass die bei Untersuchung des Arbeiterinnen-Futterbreies jetzt erhaltenen Resultate eine neue Stütze für diese Annahme bilden, denn ich habe ja nicht nur nachweisen können, dass die Arbeiterinnen- ebenso wie die Drohnen-Larven in der zweiten Altersperiode eine ganz andere Nährstoffmischung erhalten wie in der ersten, sondern es hat sich auch gezeigt, dass das Futter der unter 4 Tage alten Arbeiterinnen-Larven demjenigen der gleichalterigen Drohnen-Larven in der Zusammensetzung sehr ähnlich ist. Ferner sind auch die Futterbreie der über 4 Tage alten Arbeiterinnen- und Drohnen-Larven im Stoffgehalt nicht sehr verschieden; die mikroskopische Untersuchung hat aber gezeigt, dass die Drohnen-Larven dieser Altersstufe im Futterbrei eine beträchtliche Menge von unverdautem Pollen erhalten, die Arbeiterinnen-Larven dagegen nicht. Alle diese Unterschiede in der Zusammensetzung der Futterbreiarten als zufällige Schwankungen anzusehen, wäre widersinnig und es muss demnach die obige Annahme nunmehr als bewiesen betrachtet werden.

Es möge mir nun, nach Abschluss der ganzen Untersuchung, gestattet sein, noch einen Ueberblick über die Unterschiede zu geben, welche sich hinsichtlich der Zusammen-

setzung zwischen den Futterbreien der verschiedenen Larvenarten finden, und einige Betrachtungen an dieselben anzuknüpfen.

Was zunächst die Königinlarve betrifft, so erhält dieselbe während der ganzen Dauer ihres Larvenzustandes (7 Tage) nur fertig verdautes, aus dem besten Material bereitetes Futter, welches nach meinen Untersuchungen durchschnittlich 45% stickstoffhaltige Stoffe, 13% Fett und 20% Glycose enthält. An Trockensubstanz ist es im Durchschnitt ein wenig reicher als dasjenige, welches den Drohnen- und Arbeiterinnenlarven gereicht wird. Dieses Futter, welches keinen Zusatz von unverdautem Pollen erhält, zeigt keinerlei Unterschied, gleichgültig, ob die Larve unter oder über 4 Tage alt ist. Es wird der Larve in verschwenderischer Menge in die Wiege gelegt. Wie gross die Unterschiede sind, welche sich in Bezug auf das Futterquantum zwischen der Königinlarve und den andern Larvenarten finden, geht aus den, in meiner ersten Abhandlung gemachten Angabe zur Genüge hervor.

Die Drohnenlarven erhalten bis zum vierten Tage trefflich vorverdauten Futterbrei, welcher sogar reicher an Eiweissstoffen ist, als derjenige der Königinlarve, — offenbar in der Absicht, die Larven nach dem Auskriechen aus dem Ei in der Entwicklung rasch zu fördern. Nach dem vierten Tage aber, wo die Larven schon sehr kräftig sind, geben sich die fütternden Arbeitsbienen mit ihnen weit geringere Mühe; sie präpariren ihnen nur einen kleinen Theil des Futters im Chylusmagen zu Brei und setzen den Rest an Nährstoffen einfach in Form von Rohmaterialien, nämlich von Pollen und Honig zu, welche Substanzen sie verschlucken, und sofort wieder ausbrechen. Ein Vortheil dieses Verfahrens liegt wohl für die fütternden Bienen hauptsächlich in der Zeitersparniss, welche um so mehr in Betracht kommt, als in einem starken Stocke während der Monate Mai und Juni täglich 15—20,000 Maden zu füttern, und daneben noch andere Arbeiten (s. z. B. Zudeckeln von Zellen, in denen sich eingepuppte Larven befinden) zu besorgen sind. Wie bedeutend die Unterschiede

in der Zusammensetzung des den Drohnen verschiedenen Alters gereichten Futterbreies sind, ist aus der Tabelle zu ersehen. Ein weiterer Unterschied zeigt sich bei der mikroskopischen Untersuchung. Der Futterbrei der über 4 Tage alten Drohnenlarven enthält, wie öfter schon erwähnt ist, eine Masse von Pollenkörnern. Professor Cramer fand für nur ein Milligramm festen Futterbreies auf einer Oberfläche von 1440 □Millimetern die überraschende Zahl von 15,000 Stück Pollenkörnern.

Was schliesslich den Futterbrei der Arbeiterinnenlarven betrifft, so ist derselbe, wie derjenige der Königinlarve, stets vollständig vorverdaut, er erhält niemals einen Zusatz von unverdautem Pollen[1]). Trotzdem zeigt sich auch hier ein grosser Unterschied in der Zusammensetzung des Futterbreies während der ersten und zweiten Altersstufe der Larven, wie oben schon hervorgehoben ist. Während der Futterbrei der unter 4 Tage alten Arbeiterinnenlarven 53 °/₀ stickstoffhaltige Stoffe enthält, sinkt der Gehalt des Futterbreies an solchen Stoffen bei den über 4 Tage alten Larven auf 27 °/₀ herab. Dem entsprechend steigt der Gehalt des Futterbreies an Zucker. Es darf wohl angenommen werden, dass diese Veränderung in der Zusammensetzung des Futterbreies in der zweiten Altersstufe der Larven durch einen starken Honigzusatz hervorgebracht wird. Sucht man sich nun Rechenschaft über die Ursachen zu geben, aus denen die Bienen die Fütterung der Arbeiterinnenlarven in der beschriebenen Weise einrichten, so kommt man zu folgenden Resultaten:

Offenbar sollen die genannten Larven, ebenso wie die Drohnenlarven nach dem Auskriechen aus dem Ei in ihrer Entwicklung rasch gefördert werden; sie erhalten daher ein vollkommen vorverdautes und an Eiweissstoffen sehr reiches Futter. Haben die Larven aber eine gewisse Entwicklung

---

[1]) Sowohl in dem Arbeiterinnen-, wie in dem Königinnen-Futterbrei finden sich wohl einzelne Pollenkörner vor; aber nur in so geringer Menge, dass man dieselben nur als zufällige Bestandtheile betrachten kann — wie schon in meiner ersten Abhandlung erwähnt ist.

erreicht, so machen die fütternden Bienen es sich bequemer, sie verringern den Gehalt des Futters an vorverdautem Material, und setzen dafür in starkem Maasse Honig zu. Warum aber nicht hier, wie bei den Drohnenlarven, unverdauter Pollen zugesetzt wird, dürfte gleichfalls nicht schwer zu erklären sein. Die Zellen der Arbeiterinnenlarven sind eng und klein, sie gestatten daher nur sehr wenig Futter einzulegen; in Folge davon werden die Arbeiterinnenlarven am spärlichsten gefüttert[1]). Um so nothwendiger ist es, dass die diesen Larven gereichte, geringe Futterbreimenge ganz frei von raumeinnehmenden Pollenhülsen sei.

Eine Frage von praktischem Interesse für die Bienenzüchter scheint durch obige Futterbreiuntersuchungen ebenfalls gelöst zu sein. Es ist nämlich ein stets streitiger Punkt unter denselben: «ob eine Königin nur dann brauchbar sei, wenn sie aus einer sog. Schwarmzelle, d. h. einer von vornherein als Königinzelle erbauten Zelle herstamme, oder ob sie eben so gut und kräftig werde, wenn sie aus einer sog. Nachschaffungszelle hervorgegangen ist?»

Da der Handel mit Königinnen sehr lukrativ ist, geben sich die Imker vielfach mit der künstlichen Königinzucht ab, die darin besteht, die herrschende Königin zu entfernen, worauf die Bienen sich selbst eine Königin erziehen, durch Erweitern von Arbeiterzellen zu Königinnenzellen, und Darreichung von Königinfutter an diese Larven. Ich richtete nun an einen unserer ausgezeichnetsten Bienenzüchter, Herrn Theiler in Zug, die Anfrage, ob man aus mehr als 4 Tage alten Arbeiterlarven eben so gute Königinnen erziehe, als von jüngern. Der Genannte antwortete darauf:

«Die von mir beobachteten Königinnen, die aus ältern «Arbeiterlarven erzogen wurden, blieben mehrheitlich zurück «gegenüber solchen, die aus jüngern Arbeiterlarven erzogen «wurden. Letztere erwiesen sich gegenüber denjenigen in «Schwarmzellen (d. h. ursprünglichen Königinnenzellen er- «zogenen) ebenbürtig.»

---

[1]) Man vergl. die in meiner ersten Abhandlung darüber gemachten Angaben.

Mit diesen Aeusserungen eines schweizerischen Bienenzüchters in vollster Uebereinstimmung stehen die Erfahrungen der Bienenzüchter in Amerika laut einer Mittheilung des Herrn Mündel in der Nördlinger Bienenzeitung, No. 7, Jahrgang 1889, die er seinerseits dem American Bee Journal entnommen hat. In diesem Journal, S. 550, Jahrgang 1880, stellt ein Imker die Frage: «Wie alt müssen die Larven sein, damit aus ihnen vollkommene Königinnen entstehen?» Von den 14 eingegangenen Antworten (mit Angabe der Namen) sprechen alle mit einer einzigen Ausnahme die Antwort aus, dass nur Larven unter 4 Tage alt (die Meisten geben den 3tägigen den Vorzug) zu kräftigen Königinnen erzogen werden können.

Diese Beobachtungen der Praktiker erklären sich aus den bei der Untersuchung des Futterbreies von mir erhaltenen Resultaten. Der Futtersaft der Arbeiterlarven unter 4 Tagen ist dem Procentgehalt nach nicht nur eben so reich, sondern reicher an Blutbestandtheilen, als derjenige der Königin, und nahezu ebenso reich an Zucker; an Fett steht er jenem allerdings etwas nach. Für die eigentliche Körperentwicklung ist somit innerhalb dieser Periode so gut gesorgt, als bei der Königinlarve. Der Unterschied besteht nur in der Quantität des gereichten Futters, welche durch die Zellengrösse bedingt wird. Allein bei der Kleinheit der Larven in der gegebenen Zeit bis zum vierten Tage fällt wohl dieses Moment nicht schwer in die Waagschale; das geringere Quantum wird gutgemacht durch den Gehalt. Es ist somit aller Grund vorhanden, anzunehmen, dass die aus Arbeiterlarven der ersten Altersstufe künstlich erzogenen Königinnen den in Schwarmzellen erbrüteten in der Beschaffenheit vollständig gleich kommen können.

Möge die Praxis dieses zum Nutzen der Imker weiter bestätigen. Schliesslich sei noch darauf aufmerksam gemacht, dass auch diese Schlussuntersuchung über den Futterbrei der Arbeiterlarven wieder zu Gunsten der Schönfeld'schen Ansicht spricht, «dass man als die Werkstätte für Bildung des Futtersaftes den Chylusmagen und nicht die Speicheldrüsen anzusehen hat.»

Analytische Belege.

a) Futterbrei der unter 4 Tage alten Arbeiterlarven.
(Obwalden 1889. Zellenzahl 2000.)

Stickstoffbestimmung. Futterbrei in Alkohol geworfen. Die dabei entstandene Lösung enthielt: 1,1821 gr. Trockensubstanz. Davon lieferten: 0,4636 gr. 0,0048832 N (= 1,6 cbcm. Barytwasser[1]). Für obige 1,1821 gr. Trockensubstanz = dem flüssigen Inhalt des Gläschens = 0,0124 N. Der feste Rückstand im Gläschen enthielt 2,0514 Trockensubstanz. Davon lieferten 0,4818 gr. 0,0619556 N (= 20,3 cbcm. Barytwasser[2]). Für obige 2,0514 gr. Trockensubstanz = dem gesammten festen Inhalt des Gläschens = 0,2638 N.

Die Addition der Stickstoffmengen ergibt:

0,0124 N in 1,1821 gr. Trockensubstanz des gesammten flüssigen Theiles.
0,2638 » » 2,0514 » Trockensubstanz des gesammten festen Theiles.

0,2762 N in 3,2335 gr. Trockensubstanz als Gesammtinhalt des Gläschens.
100 Trockensubstanz = 8.5418 N = 53,38 Proteinstoffe.

Fettbestimmung. Futterbrei von Oben (in Weingeist geworfen). Die Lösung = 102 cbcm. = 1,1821 Trockensubstanz, wie Oben. Davon sind in 20 cbcm. = 0,2318 Trockensubstanz enthalten = 0,0465 gr. Fett, oder in 1,1821 = 0,2371 gr. Fett. Der feste Theil des Gläscheninhaltes ist laut Oben = 2,0514 gr. Trockensubstanz. 0,4825 hiervon lieferten 0,0080 gr. Fett. Somit 2,0514 = 0,0340 gr. Fett.

Die Addition der Fette ergibt:

0,2371 Fett = 1,1821 Trockensubstanz der Gesammtflüssigkeit.
0,0340 » = 2,0514 Trockensubstanz des gesammten festen Theiles.

0,2711 Fett = 3,2335 Trockensubstanz als Gesammtinhalt des Gläschens.
100 Trockensubstanz = 8,3841 gr. Fett.

Zuckerbestimmung. Futterbrei von Oben (in Weingeist geworfen). Die Lösung = 102 cbcm. = 1,1821 Trockensubstanz wie bei Fett. Davon lieferten: 20 cbcm. = 0,0961 Zucker (titrimetrisch), somit 102 cbcm. = 0,4900 Zucker für obige 1,1821 Totaltrockensubstanz der Lösung. (Gewichtsanalytisch erhielt ich 0,4883 gr. Zucker nach Allihn). Der feste Theil des Gläscheninhaltes ist laut Oben = 2,0514 Trockensubstanz. 0,4825 hiervon lieferten 100 cbcm.

[1]) Titer des Barytwassers: 1 cbcm. = 0,003052 gr. N.
[2]) Titer des Barytwassers: 1 cbcm. = 0.003052 gr. N.

Flüssigkeit. 78 cbcm. hiervon lieferten 0,0336 metallisches Kupfer = 0,0175 Traubenzucker, oder in 100 cbcm. (genommen aus obigen 0,4825) = 0,0224 Traubenzucker, oder in der Gesammttrockensubstanz des festen Theiles des Gläschens = 2,0514 sind enthalten: 0,0952 gr. Traubenzucker.

Die Addition der Zuckermengen ergibt:

0,4900 Zucker in 1,1821 gr. Trockensubstanz des gesammten flüssigen Theiles.
0,0952 » » 2,0514 » Trockensubstanz des gesammten festen Theiles.

0,5852 Zucker in 3,2335 gr. Trockensubstanz als Gesammtinhalt des Gläschens.
100 Trockensubstanz = 18,09 Zucker.

b) Futterbrei der über 4 Tage alten Arbeiterlarven.

(Obwalden 1889. Zellenzahl 2000.)

Stickstoffbestimmung. Futterbrei in Alkohol geworfen. Die dabei entstandene Lösung enthielt 3,5745 Trockensubstanz. Davon lieferten 0,9532 gr. 0,0045880 N (= 1,5 cbcm. Barytwasser [1]). Für obige 3,5745 Trockensubstanz = dem flüssigen Inhalt des Glächens 0,0172 N. Der feste Rückstand im Gläschen enthielt: 2,0038 Trockensubstanz. Davon lieferten 0,4528 gr. 0,05234180 N (= 17,15 cbcm. Barytwasser [2]). Für obige 2,0038 Trockensubstanz = dem gesammten festen Inhalte des Gläschens = 0,2316 N.

Die Addition der Stickstoffmengen ergibt:

0,0172 N in 3,5745 Trockensubstanz des gesammten flüssigen Theiles.
0,2316 » » 2,0038 Trockensubstanz des gesammten festen Theiles.

0,2488 N in 5,5783 gr. Trockensubstanz als Gesammtinhalt des Gläschens.
100 Trockensubstanz = 4,4601 N = 27,87 gr. Proteinstoffe.

Fettbestimmnng. Futterbrei von Oben (in Weingeist geworfen). Die Lösung = 150 cbcm. = 3,5745 Trockensubstanz wie Oben. Davon enthalten 20 cbcm. = 0,4766 Trockensubstanz 0,0223 gr. Fett. oder 3,5745 Trockensubstanz des flüssigen Theiles, 0,1674 gr. Fett. Der feste Theil des Gläscheninhaltes ist laut Oben = 2,0038 Trockensubstanz. 0,5355 hiervon lieferten Fett = 0,0103 gr. Somit in 2,0038 = 0,0385 Fett.

---

[1]) Titer des Barytwassers: 1 cbcm. = 0,003052 gr. N.
[2]) Titer des Barytwassers: 1 cbcm. = 0,003052 gr. N.

Die Addition der Fette ergibt:

0,1647 Fett in 3,5745 Trockensubstanz der Gesammtflüssigkeit.
0,0385 » » 2,0038 Trockensubstanz des gesammten festen Theiles.

0,2059 Fett in 5,5783 Trockensubstanz als Gesammtinhalt des Gläschens.

100 Trockensubstanz = 3,6911 gr. Fett.

Zuckerbestimmung. Der Futterbrei von Oben (in Weingeist geworfen). Die Lösung = 150 cbcm. = 3,5745 Trockensubstanz enthielt titrimetrisch bestimmt 2,3437 Zucker. Der feste Theil des Gläscheninhalts ist laut Oben = 2,0038 Trockensubstanz. 0,5355 hiervon geben 0,0436 Zucker, somit in der Gesammttrockensubstanz des festen Theiles = 2,0038 gr. 0,1631 Zucker.

Die Addition der Zuckermengen ergibt:

2,3437 Zucker in 3,5745 Trockensubstanz des gesammten flüssigen Theiles.
0,1631 » » 2,0038 Trockensubstanz des gesammten festen Theiles.

2,5068 Zucker in 5,5783 Gesammttrockensubstanz im Gläschen.

100 Trockensubstanz = 44,93 Zucker.

Ueber das Vorkommen von Diaminen, sogenannten Ptomainen, bei Cystinurie.

Von

L. v. Udránszky und E. Baumann.

(Der Redaction zugegangen am 5. Mai 1889.)

Am Ende des Jahres 1887 hatten wir Gelegenheit, den Harn eines Patienten zu untersuchen, welcher in Folge von Blasensteinbeschwerden und damit verbundenem Blasencatarrh Aufnahme in der chirurgischen Klinik gefunden hatte. Dieser Harn enthielt kleine gelblich gefärbte Concremente, welche Herr Prof. Kraske als Cystinsteinchen erkannte. Bei der mit dem Patienten vorgenommenen Operation wurde eine Anzahl Cystinsteine von Erbsen- bis Bohnengrösse entfernt. Von da ab zeigte der Harn nur noch ein geringes Sediment von Cystinkrystallen. Der anfänglich von Eiterkörperchen milchig getrübte Harn wurde allmälig wieder klar, besass aber während längerer Zeit noch alkalische Reaction, auch nachdem die übrigen Anzeichen von Blasencatarrh verschwunden waren.

Ein halbes Jahr nach der Operation war der frisch entleerte Harn beinahe klar, und reagirte entweder neutral oder schwach alkalisch; nur selten wurde schwach saure Reaction beobachtet.

Die Cystinausscheidung war so oft wir den Harn untersuchten — an ca. 50 Tagen zu verschiedenen Zeiten während eines Jahres — immer vorhanden. Das Sediment von Cystin-

krystallen, welche beim Stehen des Harns sich regelmässig absonderten, war fast immer sehr gering.

Im Interesse einer häufigeren chemischen Untersuchung der Harns dieses Patienten hat Herr Prof. Kraske die wiederholte Aufnahme desselben in seine Klinik im Frühling, im Sommer und im Herbst des letzten Jahres ermöglicht, obwohl der frühere Patient weder über Harnbeschwerden, noch über Störungen in der Ausübung seines Berufes — er ist Schneider in einem Dorfe am Kaiserstuhl — sich zu beklagen hatte. Für die uns hierdurch zu Theil gewordene Förderung unserer Untersuchungen sprechen wir Herrn Prof. Kraske auch an dieser Stelle unseren lebhaftesten Dank aus.

Die Ausscheidung des Cystins und der anderen Schwefelverbindungen in dem Harn der genannten Person ist eingehend und in fortlaufenden Reihen von Herrn B. Mester untersucht worden, welcher seine auch nach anderen Richtungen ausgedehnten Beobachtungen in einer folgenden Mittheilung in dieser Zeitschrift veröffentlichen wird.

Die folgenden Untersuchungen haben ausschliesslich das sehr bemerkenswerthe Vorkommen von Diaminen im Harn bei Cystinurie zum Gegenstande, über welches wir einige vorläufige Mittheilungen an anderer Stelle gebracht haben[1]). Diese Diamine gehören zu den von L. Brieger entdeckten und rein dargestellten Ptomainen, welche von diesem Autor unter dem Namen Cadaverin und Putrescin beschrieben worden sind. Das Cadaverin $C_5H_{14}N_2$ ist, wie Ladenburg[2]) und Brieger[3]) gezeigt haben, identisch mit Pentamethylendiamin. Dass Brieger's Putrescin $C_4H_{12}N_2$ nichts Anderes als Tetramethylendiamin ist, haben wir kürzlich nachgewiesen[4]).

Wir haben diese Körper, welche wir in dem Harn des genannten Patienten zuerst im December 1887 beobachteten,

---

[1]) Ber. d. D. Chem. Ges., Bd. XXI, S. 2744 und 2938.

[2]) Ber. d. D. Chem. Ges., Bd. XIX, S. 2585.

[3]) L. Brieger, Untersuchungen über die Ptomaine, Berlin 1886.

[4]) Ber. d. D. Chem. Ges., Bd. XXI, S. 2938.

seit dieser Zeit wiederholt aus dem Harn desselben dargestellt, und zwar zuletzt 10 Monate nach ihrer ersten Auffindung. Zu ihrer Isolirung diente uns eine Reaction, welche für die Abscheidung von mehrwerthigen Alkoholen, und besonders der Kohlehydrate aus dem Harn sehr gute Dienste leistet. Diese besteht in der Ueberführung der genannten Substanzen in Benzoylverbindungen, welche in Wasser ganz unlöslich, und durch grosse Beständigkeit ausgezeichnet sind[1]). Aus einem Gemenge mehrerer Diamine können die Benzoylverbindungen der einzelnen Basen durch ihre Löslichkeitsunterschiede in Aether und in Weingeist fast ohne Verluste getrennt werden.

1. Darstellung der Benzoylverbindungen der Diamine aus dem Cystinharn.

Die Tagesmenge des Harns (durchschnittlich ca. 1500 cbcm.) wurde mit 200 cbcm. Natronlauge von 10 Procent versetzt und hierauf mit 20 bis 25 cbcm. Benzoylchlorid so lange geschüttelt, bis der Geruch des letzteren verschwunden war. Dabei entstand eine ziemlich reichliche Abscheidung eines gelblich weissen Niederschlages, welcher ausser den unlöslichen Phosphaten die Benzoylverbindungen der normalen Kohlehydrate des Harns und den grösseren Theil der Benzoylverbindungen der vorhandenen Diamine enthielt. Ein anderer Theil der letzteren bleibt in der vom Niederschlage abfiltrirten, etwas trüben Flüssigkeit gelöst; dieser meist geringere Antheil wird zugleich mit dem Benzoylcystin in folgender Weise gewonnen:

Die abfiltrirte Flüssigkeit wird mit Schwefelsäure stark angesäuert, wobei eine reichliche Abscheidung von Benzoesäure erfolgt, und mit dem gleichen Volum von gewöhnlichem Aether 3mal ausgeschüttelt. Dadurch werden der wässerigen Flüssigkeit die Benzoesäure, das Benzoylcystin und die vor-

---

1) Vergl. Das Benzoylchlorid als Reagens, Ber. d. D. Chem. Ges. Bd. XXI, S. 2744.

handenen Benzoyldiamine entzogen[1]). Nachdem der Aether abdestillirt ist, wird der Rückstand, bevor er erstarrt ist, in ungefähr so viel 12procentige Natronlauge eingetragen, als zur Neutralisation erforderlich ist. Die so erhaltene, mehr oder weniger getrübte braune Flüssigkeit wird mit dem 3- bis 4fachen Volum derselben Natronlauge vermischt und in die Kälte gestellt. Sehr oft erscheint diese schon nach kurzer Zeit von langen Krystallnadeln und Blättchen so durchsetzt, dass sie eine breiförmige Masse bildet. Nach 12—24stündigem Stehen werden die Krystalle mit der Pumpe abgesaugt, und mit wenig kalter Natronlauge gewaschen. Die Krystalle bestehen aus der Natriumverbindung des Benzoylcystins, welche in Wasser leicht, in Natronlauge fast unlöslich ist, und den Benzoylverbindungen der Diamine. Die beiden Körper werden durch kaltes Wasser, in welchem die zuletzt genannten Stoffe unlöslich sind, getrennt. Zur weiteren Reinigung werden die benzoylirten Diamine in wenig warmem Weingeist gelöst und durch viel Wasser aus dieser Lösung in Form voluminöser farbloser nadelförmiger Krystalle abgeschieden.

Ein grösserer Theil, das Doppelte bis Dreifache von den in oben beschriebener Weise erhaltenen Benzoyldiaminen, findet sich in dem Niederschlage, welcher beim Schütteln des Harns mit Benzoylchlorid und Natronlauge unmittelbar sich abscheidet. Dieser Niederschlag wird mit Weingeist digerirt, die abfiltrirte bräunlich gefärbte Lösung wird bis auf ein kleines Volum eingedunstet und in etwa die 30fache Menge kalten Wassers eingegossen. In der alsbald milchig getrübten Flüssigkeit bilden sich beim Stehen die nadelförmigen Krystalle der Benzoyldiamine, welche nach einem oder mehreren Tagen abfiltrirt werden. Das Filtrat zeigt immer eine ziem-

---

[1]) Die Benzoyldiamine sind in Wasser so gut wie unlöslich, werden aber von grossen Mengen salzreicher Flüssigkeiten merklich gelöst. Auch in reinem Aether sind sie fast unlöslich; die Gegenwart anderer in Aether leicht löslicher Stoffe, wie Benzoesäure, bewirkt aber, dass sie durch Aether wässerigen Flüssigkeiten vollkommen entzogen werden.

lich starke milchige Opalescenz, welche von den durch Wasser gleichfalls gefällten Benzoylverbindungen der Kohlehydrate[1]) des Harns herrührt. Der Krystallbrei wird auf dem Filter mit Wasser so lange gewaschen, bis das Filtrat ganz klar abfliesst. Zur völligen Beseitigung der Benzoylverbindungen der Kohlehydrate werden die Krystalle nochmals in Weingeist gelöst und von Neuem mit Wasser gefällt. Die so gewonnenen Benzoylverbindungen der Diamine stellen eine sehr voluminöse Masse kleiner blendend weisser nadelförmiger Krystalle dar, welche durchaus identisch sind mit den früher genannten, aus dem Aetherauszug des Harns erzielten Krystallen. Dieselben beginnen bei etwas über 120° zu sintern, schmelzen völlig aber erst über 140°. Hieraus, sowie aus den Ergebnissen einiger Analysen, welche keine für eine einfache Formel stimmenden Werthe lieferten, war zu schliessen, dass das schön krystallisirte Präparat aus einem Gemenge bestand. Dieser Schluss wurde durch weitere Versuche bestätigt, durch welche wir eine sehr einfache und fast quantitative Trennung dieses Gemenges kennen lernten. Letztere wird in folgender Weise bewirkt: Man löst die Krystalle in ebenso viel warmem Weingeist, als zur Lösung erforderlich ist, und giesst diese Lösung in das 20fache Volum Aether; alsbald oder nach kurzer Zeit beginnt eine Krystallisation, welche man durch Abkühlen oder Umrühren beschleunigt. Die abfiltrirten Krystalle schmolzen bei 170—173°. Durch 1—2maliges Umkrystallisiren aus Weingeist wird der Schmelzpunkt bei 175 bis 176° constant. Die Untersuchung dieser Substanz liess sie als die Benzoylverbindung des Tetramethylendiamins erkennen.

Die von den Krystallen abfiltrirte Flüssigkeit lieferte nach Verdunsten des Aethers und Alkohols eine farblose strahlige Krystallmasse, welche durch Umkrystallisiren aus

---

[1]) Diese Substanzen sind im Harn des Cystinpatienten **nicht** über die Norm vermehrt, wie die Prüfung des ganz frischen Harns mit Hilfe der Furfurolreaction (vergl. L. v. Udránszky, diese Zeitschrift, Bd. XII S. 377) ergab.

Weingeist gleichfalls weiter gereinigt wurde. Man erhielt so eine zweite Substanz, welche, wie die bei 175° schmelzende, seidenglänzende Nadeln und langgestreckte Blättchen bildet, deren Schmelzpunkt nach dem Umkrystallisiren aus Weingeist bei 129—130° constant wurde. Diese Substanz, welche den Hauptbestandtheil des Gemenges bildete, erwies sich als Benzoylpentamethylendiamin.

2. Pentamethylendiamin $C_5H_{14}N_2$ (Cadaverin).

Die Ausbeute an der bei 129—130° schmelzenden Substanz war stets grösser als diejenige der höher schmelzenden Benzoylverbindung; sie betrug durchschnittlich ca. $^2/_3$ von dem Gemenge der Benzoylverbindungen. Beim vorsichtigen Erhitzen sublimiren beide Körper unzersetzt.

Die Analysen der ersten Substanz ergaben folgende Werthe, wobei noch zu bemerken ist, dass die Analysen 1—4 mit einem Präparate, dessen Schmelzpunkt bei 126—127° lag, ausgeführt wurden, während zu den Analysen 5—8 eine durch wiederholtes Umkrystallisiren vollkommen gereinigte Substanz, welche genau bei 129,5° schmolz, verwendet wurde.

1. 0,1923 gr. Substanz gaben: 0,5215 gr. CO_2 = 73,96 % C.
   0,1230 » H_2O = 7,10 » H.
2. 0,1385 » » » 0,375 gr. CO_2 = 73,89 % C.
   0,0908 » H_2O = 7,29 » H.
3. 0,2265 » » » 18,4 cbcm. Stickstoff bei 15° und 741 B. = 9,27 % N.
4. 0,1879 » » » 15,2 cbcm. N bei 16,5° und 739 B. = 9,14 % N.
5. 0,2113 » » » 0,5665 gr. CO_2 = 73,12 % C.
   0,1367 » H_2O = 7,18 » H.
6. 0,2138 » » » 0,5743 gr. CO_2 = 73,26 % C.
   0,1375 » H_2O = 7,14 » H.
7. 0,1008 » » » 7,9 cbcm. N bei 22° und 735 B. = 8,578 % N.
8. 0,1869 » » » 16,1 cbcm. N bei 29,5° und 738 B. = 9,08 % N.

Zusammenstellung der Analysen:

	Substanz v. Schmelzp. 126—127°:				Substanz v. Schmelzp. 129,5°:			
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
C	73,96	73 89	—	—	73,12	73,26	—	— %
H	7.10	7,28	—	—	7,18	7,14	—	— »
N	—	—	9,27	9,14	—	—	8,58	9,08 »

	Mittel der Analysen:	Berechnet für $C_{19}H_{22}N_2O_2$:
C	73,57	73,55 %.
H	7,17	7,09 »
N	9,04	9,03 »

Da die Kohlenstoffbestimmungen unserer Analysen bei Präparaten verschiedener Darstellungen noch merklich von den ausgerechneten Mittelwerthen abwichen, musste der Beweis, dass unserer Substanz die Zusammensetzung $C_{19}H_{22}N_2O_2$ zukomme, noch auf anderem Wege geliefert werden. Dieser Nachweis wurde dadurch geführt, dass die Substanz in Pentamethylendiamin und Benzoesäure glatt gespalten wurde. Das Pentamethylendiamin liefert andererseits bei Behandlung mit Benzoylchlorid und Natronlauge einen Körper, welcher in jeder Hinsicht mit unserer Substanz übereinstimmt. Die Constitution der letzteren ist deshalb die folgende:

$$\begin{array}{l} CH_2 - CH_2 - CH_2 - NH(COC_6H_5) \\ | \\ CH_2 - CH_2 - NH(COC_6H_5). \end{array}$$

Die Dibenzoylverbindung ist ausserordentlich beständig gegen Säuren und gegen Alkalien. Concentrirte Schwefelsäure löst dieselbe leicht auf, durch Wasser wird aus dieser Lösung die unveränderte Substanz wieder abgeschieden. Erst bei längerem Erhitzen mit starken Säuren tritt eine Zersetzung ein. Zur völligen Abspaltung der Benzoesäure ist tagelanges Erhitzen mit concentrirter Salzsäure in alkoholischer Lösung erforderlich.

13 gr. der aus dem Harn gewonnenen Benzoylverbindung wurden mit einer Mischung aus gleichen Theilen Alkohol und concentrirter Salzsäure auf dem Wasserbade erhitzt, bis eine herausgenommene Probe von verdünnter

Natronlauge völlig gelöst wurde. Nach 2 Tagen war die Spaltung beendigt; die beim Verdünnen mit Wasser abgeschiedene Benzoesäure wurde abfiltrirt; das Filtrat wurde durch Ausschütteln mit Aether von der Benzoesäure befreit und zur Trockene verdunstet. Es hinterliess eine strahlige Krystallmasse, welche in Wasser sehr leicht, in Alkohol schwer sich löste. Eine Spur dieses Rückstandes, der Chlorwasserstoffverbindung einer starken Base, gab beim Erhitzen mit Aetzkali einen eigenartigen sehr penetranten Geruch, welcher sofort an die von Brieger entdeckten Ptomaine erinnerte. Brieger hat diesen an «Sperma erinnernden» Geruch zuerst beim Neuridin beobachtet, später als charakteristische Eigenschaft besonders des Cadaverins und in geringerem Maasse des Putrescins erkannt. Die folgenden Versuche liessen die Natur der vorliegenden Base genau erkennen.

Aus der weingeistigen Lösung des salzsauren Salzes wurde durch alkoholisches Platinchlorid ein reichlicher, gelber, krystallinischer Niederschlag eines Platinchlorid-Doppelsalzes gefällt, welches durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser gereinigt wurde. Beim langsamen Erkalten der Lösung entstanden vollkommen ausgebildete rothgelbe Krystalle von oktaëderähnlichem Habitus, welche die grösste Aehnlichkeit zeigen mit Brieger's[1]) Abbildungen des salzsauren Cadaverin-Platinchlorids. Bei einer anderen Krystallisation wurde dasselbe Salz in büschelförmig vereinigten langgestreckten Säulen erhalten. Eine Platinbestimmung mit 0,3746 gr. Substanz lieferte 0,1425 gr. = 38,04 % Pt. Das Doppelsalz $C_5H_{10}(NH_2HCl)_2 + PtCl_4$ enthält 38,02 % Pt. Zur weiteren Feststellung der Base wurden 12 gr. des Platinsalzes zur Darstellung der freien Base mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Das wiedergewonnene salzsaure Salz wurde mit Aetzkali destillirt, dabei ging zuerst etwas Wasser, und über 160° ein farbloses Oel über, dessen Siedepunkt bei erneuter Destillation bei 173° (uncorr.) beobachtet wurde. Der Siedepunkt des Cadaverins, d. i. des Penta-

---

[1]) L. Brieger, Ptomaine.

methylendiamins liegt nach Ladenburg[1]) bei 175—178°. Die freie Base besitzt den schon erwähnten Geruch, raucht an der Luft, und zieht mit grosser Begierde Kohlensäure an, wobei sie sich in eine feste weisse Masse von kohlensaurem Salz verwandelt.

Nach dem Bisherigen erschien es sehr wahrscheinlich, dass unsere Base nichts Anderes als Pentamethylendiamin (Cadaverin) sei. Durch die folgenden Versuche wird jeder Zweifel an der Identität unserer Substanz mit der von Brieger und von Ladenburg beschriebenen Base beseitigt.

Brieger beschreibt als eine sehr charakteristische Eigenschaft des Cadaverins seine Verbindung mit Pikrinsäure, welche in kaltem Wasser fast unlöslich ist, in dünnen Nadeln und langgestreckten Tafeln krystallisirt, und bei ca. 221° unter Zersetzung schmilzt. Wir erhielten aus der wässerigen Lösung unserer Base ein Pikrat in grosser Menge, das die von Brieger angegebenen Eigenschaften besass. Dasselbe begann bei 220° zu schmelzen und war bei 222° völlig zu einer schwarzen Flüssigkeit geschmolzen, aus welcher reichlich Gasblasen sich entwickelten. Die Analyse des in Wasser fast unlöslichen Salzes ergab für das Pikrat des Pentamethylendiamins $C_5H_{14}N_2(C_6H_3N_3O_7)_2$ gut stimmende Werthe:

1. 0,1962 gr. Substanz gaben: 0,2630 gr. CO_2 = 36,55 % C.
   0,0703 » H_2O = 3,97 » H.
2. 0,2318 » » » 40,4 cbcm. N bei 14,5° und 737 B. = 19,83 % N.

	Berechnet für $C_5H_{14}N_2(C_6H_3N_3O_7)_2$:		Gefunden: 1.	2.
C_{17}	= 204	36,42	36,55	—
H_{20}	= 20	3,57	3,97	—
N_8	= 112	20,00	—	19,83
O_{14}	= 224	40,00	—	—
	560	99,99		

Da Benzoylverbindungen des Pentamethylendiamins noch nicht beschrieben sind, haben wir uns nach Ladenburg's

---

[1]) D. Chem. Ges., Bd. XVIII, S. 2957.

Methode aus Trimethylenbromid eine kleine Menge der Base dargestellt, und diese in wässeriger Lösung benzoylirt. Nach einmaligem Umkrystallisiren dieser Benzoylverbindung aus Weingeist erhielten wir Krystalle, welche bei 130° schmolzen, und in Nichts von der oben beschriebenen Benzoylverbindung differirten. Eine C- und H-Bestimmung ergab die von der Theorie geforderten Werthe:

Analyse:

0,1875 gr. Substanz gaben: 0,5075 gr. CO_2 = 73,81 % C.
0,1260 » H_2O = 7,45 » H.

	Gefunden:	Berechnet für $C_5H_{10}(NHCOC_6H_5)_2$:
C	73,81	73,55 %.
H	7,46	7,09 »

Herr Prof. Brieger hatte die Freundlichkeit, uns eine kleine Menge der bei der Fäulniss gebildeten Base zu überlassen. Wir erhielten auch aus diesem Product eine Benzoylverbindung vom Schmp. 130°, welche in allen Eigenschaften mit der aus dem Harn gewonnenen und der aus synthetischem Pentamethylendiamin gebildeten Benzoyldiamin übereinstimmte.

Durch alle im Vorstehenden genannten und geschilderten Versuche wird bewiesen, dass der Harn des Cystinpatienten Pentamethylendiamin enthielt. Die Identität dieses Körpers mit dem Cadaverin Brieger's ist vor Kurzem von Ladenburg (l. c.) nachgewiesen und von Brieger (l. c.) bestätigt worden.

Die Theorie lässt die Existenz von nicht weniger als 12 Körpern der Zusammensetzung $C_5H_{10}(NH_2)_2$ voraussehen, in welchen die NH_2-Gruppen an verschiedene Kohenstoffatome gebunden sind. Von den Isomeren des Pentamethylendiamins ist zwar noch keines hinsichtlich seiner Constitution bekannt, indessen hat Brieger ausser dem Pentamethylendiamin noch 2 Ptomaine derselben Zusammensetzung, welche er Neuridin und Saprin benannt hat, dargestellt, und mehrere Salze dieser Basen beschrieben. Einige Beobachtungen machten es uns anfänglich wahrscheinlich, dass neben dem Pentamethylendiamin eine isomere Base in dem von uns untersuchten Harn ent-

halten sei. Bei der Darstellung einer grösseren Menge des oben beschriebenen Platinsalzes aus der noch nicht völlig gereinigten Benzoylverbindung fanden wir, dass die Mutterlaugen, aus welchen der grösste Theil des Doppelsalzes auskrystallisirt war, ein leichter lösliches Salz enthielten, welches beim Verdunsten in gelben Krystallschüppchen sich absetzte. Der Platingehalt dieses Salzes stimmte fast genau mit dem des früher beschriebenen Doppelsalzes überein:

1. 0,1667 gr. des Salzes gaben: 0,063 gr. = 37,79 % Pt.
2. 0,1665 » » » » 0,0628 » = 37,71 » »

	Gefunden:		Berechnet für
	1.	2.	$C_5H_{16}N_2PtCl_6$:
Pt	37,79	37,71	38,02.

Der Schluss, dass die Platinsalze von 2 isomeren Basen vorliegen, schien durch die Beobachtung Brieger's, nach welcher die Platindoppelsalze sowohl des Neuridins als auch des Saprins leicht löslich sind, eine gewisse Stütze zu gewinnen. Die genauere Untersuchung der Mutterlaugen überzeugte uns indessen, dass in unserem Falle sicher nur Pentamethylendiamin ohne jede Beimengung einer isomeren Substanz vorlag. Wurde das aus den Mutterlaugen gewonnene leicht lösliche Platinsalz aus der concentrirten wässerigen Lösung durch Weingeist gefällt und dann aus heissem Wasser 1- bis 2mal krystallisirt, so erhielt man wieder das schwer lösliche Salz, welches in Krystallform und Löslichkeit genau mit dem zuerst dargestellten Salze übereinstimmte, ein Beweis, dass das scheinbar leicht lösliche Salz diese Eigenschaft nur durch gewisse Verunreinigungen erhalten hatte.

Bei dieser Gelegenheit wurde die Löslichkeit des salzsauren Pentamethylendiamin-Platinchlorids ermittelt; dasselbe braucht 113 bis 114 Theile Wasser von 12° zur Lösung.

Einen weiteren Beweis dafür, dass isomere Basen von der Formel $C_5H_{14}N_2$ in den aus dem Harn gewonnenen Benzoylverbindungen nicht enthalten sind, ergab die Benzoylirung der letzten Mutterlaugen des Platindoppelsalzes. Dieselben lieferten ausschliesslich das bei 129—130° schmelzende Dibenzoylpentamethylendiamin.

3. Tetramethylendiamin $C_4H_8(NH_2)_2$ (Putrescin).

Die bei 175—176° schmelzende Benzoylverbindung, deren Darstellung früher beschrieben wurde, ist in Weingeist merklich schwerer löslich, als das Benzoylpentamethylendiamin; sonst ist sie letzterem durchaus ähnlich. Seine Analyse ergab Werthe, welche für die Benzoylverbindung eines Diamins mit 4 Atomen Kohlenstoff sehr nahe stimmten.

Analysen:

1. 0,215 gr. Substanz gaben: 0,5722 gr. CO_2 = 72,58 % C.
   0,1350 » H_2O = 6,95 » H.
2. 0,2033 » » » 17,2 cbcm. N bei 12° und 737 B. = 9,73 % N.
3. 0,2692 » » » 22,5 cbcm. N bei 13° und 737 B. = 9,56 % N.

	Berechnet für $C_4H_8(NHCOC_6H_5)_2$:		Gefunden: 1.	2.	3.
C_{18}	= 216	72,97 %	72,58	—	—
H_{20}	= 20	6,75 »	6,95	—	—
N_2	= 28	9,46 »	—	9,73	9,56
O_2	= 32	10,81 »	—	—	—
	296	99,99			

Eine kleine Quantität der Benzoylverbindung (2,5 gr.) wurde durch 12stündiges Erhitzen mit Alkohol und Salzsäure gespalten. Nach Entfernung der Benzoesäure wurde beim Verdunsten der Flüssigkeit ein in Alkohol schwer lösliches salzsaures Salz erhalten, aus welchem durch Alkali die freie Base abgeschieden wurde. Diese besass einen dem Pentamethylendiamin durchaus ähnlichen Geruch. Aus der concentrirten wässerigen Lösung des salzsauren Salzes wurde durch Platinchlorid und Alkohol das Platindoppelsalz gefällt. Dieses bildete nach dem Umkrystallisiren aus Wasser feine Prismen, welche meist zu Drusen verwachsen waren. Die Analyse desselben lieferte folgende Werthe:

1. 0,1997 gr. Substanz gaben: 0,0783 gr. = 39,21 % Pt.
2. 0,0710 » » » 0,0280 » = 39,43 » »

	Gefunden: 1.	2.	Berechnet für $C_4H_8(NH_2HCl)_2 + PtCl_4$:
Pt	39,21	39,43	39,15 %.

Um die Constitution dieser zweiten Base zu ermitteln, musste wieder die Vergleichung derselben mit den Körpern von der Zusammensetzung $C_4H_{12}N_2$ und von bekannter Constitution durchgeführt werden. Es lag am nächsten, mit dem Tetramethylendiamin zu beginnen. Letzteres stellten wir uns aus Aethylencyanid dar. Das Aethylencyanid wurde nach Ladenburg's[1]) Vorschrift in absolutem Alkohol bei Siedetemperatur mit metallischem Natrum reducirt.

Das hierbei gebildete Tetramethylendiamin wurde mit überhitztem Wasserdampf abdestillirt, und direct benzoylirt. Das Reactionsproduct wurde aus heissem Weingeist umkrystallisirt, und bildete, so gereinigt, farblose langgestreckte Nadeln, welche bei 175—176° schmolzen und in jeder Hinsicht mit der aus dem Harn gewonnenen Benzoylverbindung vom gleichen Schmelzpunkt als identisch sich erwiesen.

Analysen:

1. 0,208 gr. Substanz gaben: 0.5572 gr. CO_2 = 73,06 % C.
   0,1225 » H_2O = 6,54 » H.
2. 0,1987 » » » 17,1 cbcm. N bei 27° und 740 B. = 9,24 % N.

	Gefunden:		Theorie für
	1.	2.	$C_4H_8(NHCOC_6H_5)_2$:
C	73,06	—	72,97 %.
H	6,54	—	6,75 »
N	—	9,24	9,46 »

Es besteht somit kein Zweifel darüber, das das zweite aus dem Cystinharn abgeschiedene Diamin mit dem Tetramethylendiamin identisch ist.

Brieger hat unter den von ihm entdeckten Ptomainen einen Körper von der Zusammensetzung $C_4H_{12}N_2$, welchen er Putrescin nannte, genauer untersucht und beschrieben.

Es war von nicht geringem Interesse, festzustellen, ob Brieger's Putrescin mit der aus dem Cystinharn gewonnenen Base identisch oder nur isomer ist. Wenn Ersteres der Fall,

---

[1]) D. Chem. Ges., Bd. XVI, S. 360.

so war zugleich die Constitution einer weiteren Substanz aus der Reihe der von Brieger entdeckten Ptomaine ermittelt. Wir sind deshalb Herrn Prof. Brieger für die Ueberlassung einer Probe seines Putrescins zum Zwecke der Vergleichung dieses Körpers mit unserer Base zu besonderem Danke verpflichtet.

Bei der Benzoylirung des Putrescins wurde die Vermuthung, dass diese Base nichts Anderes als Tetramethylendiamin sei, welche Herr Prof. Brieger von vornherein mit uns theilte, durchaus bestätigt. Der Schmelzpunkt der einmal aus Weingeist krystallisirten Benzoylverbindung lag bei 175°. Löslichkeit, Krystallform und Zusammensetzung derselben stimmten durchaus mit der aus dem Cystinharn und der aus dem Tetramethylendiamin erhaltenen Benzoylverbindung überein.

Analysen:

1. 0,1898 gr. Substanz gaben: 0,5037 gr. CO_2 = 72,37 % C.
   0,1130 » H_2O = 6,66 » H.
2. 0,2155 » » » 0,5720 gr. CO_2 = 72,39 % C.
   0,1340 » H_2O = 6,91 » H.
3. 0,2030 » » » 16,8 cbcm. N bei 17° und 749 B.
   = 9,45 % N.

	Gefunden:			Berechnet für
	1.	2.	3.	$C_4H_8(NHCOC_6H_5)_2$:
C	72,37	72,39	—	72,97 %.
H	6,66	6,91	—	6,75 »
N	—	—	9,45	9,46 »

Brieger ermittelte den Siedepunkt des Putrescins bei 156—157°. Ladenburg[1]) fand denjenigen des Tetramethylendiamins bei 158—160°.

Wir beobachteten den Schmelzpunkt der Brieger'schen Base bei 24°, das Tetramethylendiamin schmilzt nach Ladenburg[1]) bei 23—24°.

Die Identitat von Putrescin mit dem Tetramethylendiamin ist somit nicht zu bezweifeln.

---

[1]) D. Chem. Ges., Bd. XIX, S. 781.

4. Ueber die quantitative Bestimmung der Diamine in wässerigen Lösungen nnd im Harn.

Um zu ermitteln, in wie weit die Abscheidung der Benzoylverbindungen der Diamine zur quantitativen Ermittelung dieser Stoffe im Harn verwerthet werden kann, haben wir mehrere Versuche angestellt, welche Folgendes ergaben.

Lösungen von Pentamethylendiamin und von Tetramethylendiamin liefern bei einer Verdünnung von 1 : 10,000 eine nahezu quantitative Ausbeute der entsprechenden Benzoylverbindungen. ½ Liter Wasser, welchem 0,005 gr. der Basen zugesetzt wurden, gibt noch eine bemerkbare Abscheidung der krystallisirten Benzoylverbindungen. Bei dieser Verdünnung von 1 : 100,000 ist aber die Grenze der Anwendbarkeit schon überschritten. Aus folgenden Beispielen wurden die Verhältnisse für wässerige Lösungen und beim Harn ersichtlich:

Versuch 1. Eine Lösung von 0,00788 gr. Pentamethylendiamin in 100 cbcm. Wasser lieferte beim Schütteln mit 5 cbcm. Benzoylchlorid und 45 cbcm. Natronlauge von 10% 0,0218 gr. der Benzoylverbindung vom Schmelzpunkt 129 bis 130°, somit eine Ausbeute von 92% der theoretischen. Die Verdünnung der Lösung, welche benzoylirt wurde, war 1 : 12600.

Versuch 2. Als dieselbe Menge der Base (0,00788 gr.) in 175 cbcm. Wasser gelöst in sonst gleicher Weise benzoylirt wurde, erhielten wir nur 0,0142 gr. der Benzoylirung (Schmp. 129—130°). In diesem Falle betrug die Verdünnung der Lösung 1 : 22,200 und die Ausbeute 60,4% der theoretisch möglichen.

Versuch 3. 0,050 gr. Tetramethylendiamin wurden zu 500 cbcm. normalem Harn (welches frei von Diaminen war) hinzugefügt. Dieser Harn wurde mit 10 cbcm. Benzoylchlorid und 100 cbcm. Natronlauge (von 10%) geschüttelt, und genau in der S. 564 beschriebenen Weise verarbeitet. Wir erhielten

0,103 gr. farblose Krystalle von Benzoyltetramethylendiamin, welche bei 172—173° (statt 175—176°) schmolzen. Bei der Prüfung dieser Krystalle mit α-Naphtol und concentrirter Schwefelsäure wurde eine noch eben erkennbare Furfurolreaction erhalten, welche auf eine minimale Verunreinigung der Krystalle mit benzoylirten Kohlehydraten hindeutet, deren Gewicht jedenfalls nicht in Betracht kommt.

Die Harnlösung des Tetramethylendiamins war hier auf 1 : 10,000 verdünnt. 0,050 gr. der freien Base würden nach der Theorie 0,168 gr. der Benzoylverbindung liefern. Die Menge der aus dem Harn wieder isolirten Base betrug somit 60 % des theoretischen Werthes.

Diese Versuche zeigen, dass noch sehr geringe Mengen der Diamine mit Hilfe von Benzoylchlorid aus wässerigen Lösungen und aus Harn abgeschieden werden können, und dass diese Abscheidung, unter Berücksichtigung der in den obigen Versuchen geschilderten Verhältnisse, zu quantitativen Bestimmungen derselben wohl verwerthbar ist.

Da die Pikrinsäureverbindungen der Diamine, wie Brieger gefunden hat, in kaltem Wasser fast unlöslich sind, versuchten wir auch auf diesem Wege die Abscheidung derselben aus verdünnten Lösungen zu bewirken. Eine Lösung von Pentamethylendiamin oder Tetramethylendiamin von 1 : 1000 in Wasser gibt mit Pikrinsäure augenblicklich eine reichliche Fällung der Pikrate. Bei einer Verdünnung von 1 : 10,000 tritt die Abscheidung nicht mehr sofort ein; aber beim Stehen der mit Pikrinsäure versetzten Lösungen scheiden sich nach einiger Zeit lange Nadeln der Pikrate aus. Bei einer Verdünnung von 1 : 100,000 wird auch nach längerem Stehen nichts mehr abgeschieden. Ein Versuch, aus 500 cbcm. Harn, welchem 0,050 gr. Pentamethylendiamin zugesetzt worden waren, die Base mittelst Pikrinsäure abzuscheiden, und dieses Pikrat wieder durch Lösen in Natronlauge und Schütteln mit Benzoylchlorid in die Benzoylverbindung zu verwandeln, ergab eine so geringe Ausbeute an letzterer, dass diese Methode zu quantitativen Bestimmungen der Diamine im Harn nicht weiter befolgt wurde.

5. Ueber die Verhältnisse der Diaminausscheidung im Harn bei Cystinurie.

Wir haben in 4 verschiedenen Perioden zwischen December 1887 und December 1888 jeweils 8—18 Tage lang den Harn des Cystinpatienten auf Diamine geprüft, und dabei diese Körper regelmässig meist in Mengen von 0,2 bis 0,4 gr. der Benzoylverbindungen aus dem Tagesharn gewonnen. Wir haben von dem fast reinen Gemenge der beiden Benzoylverbindungen aus dem Harn mehr als 30 gr. in Händen gehabt. Ungefähr $^1/_3$ bis $^1/_4$ derselben bestand aus der Verbindung des Tetramethylendiamins, während der übrige grössere Theil der Benzoylverbindung des Pentamethylendiamins angehörte. Beispielsweise ergab die Trennung der Benzoylverbindungen, welche aus dem Harn von 2 Tagen im Gewichte von 0,6655 gr. dargestellt worden waren, folgendes Resultat: Das Gemenge, welches von 125—145° schmolz, wurde in möglichst wenig Alkohol gelöst und diese Lösung in viel Aether gegossen. Hierbei krystallisirten 0,2433 gr. Benzoyltetramethylendiamin (36%), welches bei 173° (statt 175—176°) schmolz, somit noch nicht völlig rein war, aus. Aus der alkohol-ätherischen Lösung wurde nach Verdunsten des Aethers durch viel Wasserzusatz die Verbindung des Pentamethylendiamins gefällt. Von letzterer wurden 0,4178 gr. (63%) erhalten. Aus diesem Versuche ist ersichtlich, dass man die beiden Benzoylverbindungen fast ohne Verlust von einander trennen kann.

Allein das Verhältniss der Diamine in dem Harn blieb so wenig constant, als die absolute Menge derselben. In einzelnen Fällen beobachteten wir ein Ueberwiegen des Tetramethylendiamins über die andere Base, namentlich wenn die absolute Menge der Basen relativ gering war.

Der Harn des Cystinpatienten wurde, wie schon mitgetheilt, an ca. 50 Tagen mit positivem Erfolg in 4 Zeiträumen, welche über mehr als 1 Jahr vertheilt waren, untersucht: regelmässig wurden neben dem Cystin die beiden Diamine gefunden. Im December 1888 hatten wir zuletzt Gelegenheit, denselben Harn an 9 auf einander folgenden

Tagen zu prüfen. Dabei zeigte sich eine beträchtliche Abnahme der Diaminausscheidung, so zwar, dass wir an einem Tage nur 0,091 gr. Benzoylverbindung gewannen, welche nach ihrem Schmelzpunkte als fast reines Benzoyltetramethylendiamin sich erwies. An den übrigen 8 Tagen konnten wägbare Mengen der sonst regelmässig gefundenen Diamine nicht erhalten werden.

Während dieser Zeit bestand die Cystinausscheidung fort, indem jeder Tagesharn ein geringes Cystinsediment gab. An 8 Tagen wurde die Cystinausscheidung durch Darstellung des Benzoylcystins ermittelt, wobei zu erinnern ist, dass diese Methode etwas zu niedere Werthe liefert. Am 1. Tag wurden 0,522 gr., am 2. Tage 0,485 gr. Benzoylcystin aus dem Tagesharn erhalten. Aus dem Harn der folgenden 6 Tage wurden zusammen 3,030 gr. Benzoylcystin gewonnen, d. i. 0,505 gr. Benzoylcystin oder 0,207 gr. Cystin pro Tag.

Der frische Harn reagirte während dieser Zeit an 2 Tagen alkalisch, 3mal neutral und an 2 Tagen schwach sauer. Blasencatarrh bestand in dieser Zeit nicht.

Während dieser letzten Periode, wo an den meisten Tagen Diamine im Harn nicht wahrnehmbar waren, wurden diese Körper in den Darmentleerungen des Cystinpatienten in reichlichen Mengen gefunden, worüber weiter unten berichtet wird.

6. Ueber das Vorkommen von «Ptomainen» in normalem und pathologischem Harn.

Die beiden aus dem Cystinharn gewonnenen Diamine gehören zu den Körpern, welche gegenwärtig unter dem Namen «Ptomaine» zusammengefasst werden. Bevor weitere Schlüsse aus dem von uns beobachteten Vorkommen dieser Substanzen im Harn des Cystinpatienten gezogen werden, ist die Frage zu beantworten, ob und unter welchen Umständen solche oder verwandte Körper bis jetzt im menschlichen Harn aufgefunden worden sind. Da die Bezeichnung Ptomaine neuerdings in verschiedenem Sinne gebraucht worden ist, ist auch auf die Bedeutung dieser Benennung hier einzugehen.

Selmi[1]), welcher den Namen «Ptomaine» eingeführt hat, verstand darunter diejenigen Substanzen, welche, bei der Fäulniss von Gewebssubstanzen gebildet, die allgemeinen Reactionen der Pflanzenalkaloide zeigen und mehr oder weniger stark wirkende Gifte sind. Die Untersuchungen Selmi's und Anderer, welche ihm auf dieses schwierige Gebiet gefolgt sind, führten indessen nicht zu einer genaueren Erforschung dieser Producte, weil dieselben allen Versuchen zur Trennung einzelner bestimmter Stoffe widerstanden.

Erst Brieger gelang es, aus den unkrystallisirbaren Extracten und den syrupartigen Producten, welche seine Vorgänger in Händen hatten, bestimmte chemische Stoffe zu isoliren und zum Theil in prächtig krystallisirte Verbindungen überzuführen. Dadurch erst sind die Ptomaine einer allgemeinen chemischen Untersuchung zugänglich geworden, welche seitdem hauptsächlich von Brieger selbst weiter gefördert worden ist.

Brieger fand, dass die von ihm aus den Fäulnissproducten isolirten Basen meist verhältnissmässig wenig giftig sind, während diese Eigenschaft den aus Culturen pathogener Bacterien isolirten «Ptomainen» wie Tetanin, Typhotoxin u. a. in hohem Maasse zukommt. Um hier zu unterscheiden, nannte Brieger diese giftigen Stoffe: «Toxine», wodurch der Begriff der Giftigkeit von den Ptomainen losgelöst wurde. Unter letzteren versteht Brieger nunmehr alle basischen Producte, welche direct oder indirect durch die Lebensthätigkeit der Mikroorganismen gebildet werden, ohne Rücksicht darauf, ob diese Stoffe als Gifte anzusehen sind oder nicht.

Durch diese Definition wird der Begriff der Ptomaine in demselben Maasse unsicherer, als er weiter wird. Da die Stoffwechselproducte der Bacterien nicht generell verschieden sind von denjenigen der höheren Organismen, werden nunmehr auch manche längst bekannte Producte des Stoffwechsels von Pflanzen und Thieren den Ptomainen zugezählt. So werden z. B. das Cholin und seine Zerfallsproducte, deren Bildung auf einer Spaltung des in allen Organismen ver-

[1]) D. Chem. Ges., Bd. XI, S. 808.

breiteten Lecithins beruht, als Ptomaine bezeichnet. Hierzu treten nun noch die secundären Producte des Lebensthätigkeit der Mikroorganismen, welche aus zufällig vorhandenen Stoffen durch den Fäulnissprocess abgespalten oder gebildet werden, wie Methylamin, Dimethylamin etc.

Gautier[1]) gebraucht den Namen Ptomaine, mehr im Sinne der ursprünglichen Bedeutung desselben, für die Bezeichnung der mehr oder weniger specifischen Producte des Stoffwechsels der Bacterien, und unterscheidet von diesen die in den Geweben lebender Thiere aus dem Eiweiss gebildeten basischen Producte, als Leukomaine. Zu letzteren sind z. B. Kreatin und verwandte Stoffe zu rechnen. Manche Leukomaine sind nach Gautier starke Gifte.

Die genannten und noch andere Unsicherheiten bei der Definition der Ptomaine verlieren indessen in dem Maasse an Bedeutung, als die chemische Natur der in Betracht kommenden Körper besser erkannt wird. Gänz ähnliche Wandlungen, wie die Ptomaine, haben bekanntlich die Alkaloide hinsichtlich ihrer Definition im Laufe der Zeiten durchgemaht.

Hinweise darauf, dass im Harn vom Menschen «Ptomaine» vorkommen, sind fast so alt als die Kenntniss von der Existenz der später so benannten Stoffe überhaupt.

Dupré und Bence Jones[2]) gaben im Jahre 1866 an, eine alkaloidartige Substanz, welche in schwefelsaurer Lösung blaue Fluorecenz besass, unter Anderem auch im Harn gefunden zu haben.

Aber erst, seitdem bekannt wurde, dass durch die Lebensthätigkeit von Spaltpilzen giftige Producte erzeugt werden können, ist der Gedanke öfter discutirt worden, dass bei der Darmfäulniss gebildete Ptomaine zum Theil resorbirt und im Harn ausgeschieden werden. Da man aber solche Stoffe aus dem Harn nicht isoliren konnte, haben die meisten Autoren sich darauf beschränkt, durch Thierversuche die Giftigkeit von normalem und pathologischem Harn oder daraus gewonnener Extracte darzuthun.

---

[1]) Bull. Acad. méd., 1886.

[2]) Proceed. Roy. Soc., Bd. XV, S. 73; 1866.

Nur Pouchet[1]) gibt an, dass er aus menschlichem Harn 2 Körper isolirt habe, welche giftig seien und die bekannten Alkaloidreactionen zeigten. Allein obwohl dieser Autor einige Eigenschaften der von ihm aus Gerbsäurefällungen des Harns isolirten Substanzen beschreibt, scheint die Existenz derselben noch wenig sichergestellt zu sein. Keiner der zahlreichen Forscher, welche seitdem mit demselben Gegenstande sich beschäftigt haben, hat die Körper Pouchet's wieder gefunden. Und die Frage, ob der Harn organische giftige Verbindungen («Ptomaine») überhaupt enthalte, ist in der Folge ebenso oft verneint als bejaht worden. Eine vor Kurzem erschienene Arbeit Stadthagen's[2]) überhebt uns der Aufgabe, auf die vielfach sich widersprechenden Angaben über das Vorkommen von Ptomainen weiter einzugehen; wir wollen an dieser Stelle auf die Literaturzusammenstellung sowohl als auf die lichtvolle Behandlung der vorliegenden Frage durch Stadthagen selbst verweisen. Durch eine Reihe sorgfältiger Beobachtungen hat Stadthagen die Frage des «Harngiftes», wenigstens was den normalen Harn anlangt, zu einem gewissen Abschlusse gebracht. Im Einklange mit Feltz und Ritter[3]) kommt Stadthagen zu dem Schlusse, dass specifische organische Gifte im normalen Harn nicht vorkommen, und dass dessen physiologische Wirkung ganz oder zum allergrössten Theile durch seinen Gehalt an Kalisalzen bedingt werde. An der Hand der von Brieger ausgebildeten Methoden zur Untersuchung der Ptomaine hat Stadthagen keinerlei derartige Stoffe im normalen Harn nachweisen können.

Dieser Nachweis Stadthagen's, dass Ptomaine im normalen Harn nicht zugegen sind, kommt für uns wesentlich bezüglich der Diamine in Betracht. Schon früher hat Brieger gefunden, dass diese Körper weder in normalem Harn, noch in den Fäces sich finden. Wir haben nicht unterlassen, in dieser Frage uns mit Hilfe der Benzoylchloridreaction ausserdem ein eigenes Urtheil zu verschaffen, und

[1]) Compt. rend., Bd. XCVII, S. 1560.
[2]) Zeitschr. f. klin. Med., Bd. XV, Heft 5 u. 6.
[3]) Compt. rend., Bd. CII, S. 880.

die Richtigkeit der Angaben von Brieger und Stadthagen[1]) durch die Prüfung des Harns von 25 verschiedenen Personen durchaus bestätigt gefunden. Wir haben niemals eine Spur von Diaminen entdecken können.

Es lag nahe, das Auftreten der Diamine im Harn des Cystinpatienten mit dem Blasencatarrh, welcher längere Zeit bestanden hatte, in Zusammenhang zu bringen. Allein weder beim acuten, noch beim chronischen Blasencatarrh finden sich die Diamine im Harn.

Wir haben ferner den Harn bei Scharlach, Diphtherie, Typhus, Pneumonie, Perforations-Peritonitis, und bei ausgebreiteten Eiterungen wiederholt, mit demselben negativen Resultat wie beim normalen Harn untersucht.

Der Harn und das Blut von Hunden enthalten gleichfalls keine Diamine.

Nach Brieger's Untersuchungen werden die Diamine bei gewissen Fäulnissprocessen gebildet und ausserdem in den Culturen bestimmter Bacterien der Cholerabacillen und des Finkler-Prior'schen Vibrio's gefunden[2]). Der eigenthümliche Geruch der Cholerastühle ist nach Brieger hauptsächlich durch die Gegenwart von Pentamethylendiamin bedingt. Obwohl der directe Nachweis dieser Base im Darminhalte der Cholerakranken noch nicht geliefert ist, kann man an der Richtigkeit der Annahme Brieger's bezüglich dieses Vorkommens kaum zweifeln.

Alle bisher über das Auftreten der Diamine im Harn gesammelten Erfahrungen sprechen dafür, dass das gleichzeitige Vorkommen dieser Körper mit dem Cystin im Harn kein zufälliges sei, sondern in irgend einem causalen Zusammenhang mit der Cystinurie stehe. Dieser Schluss bedurfte aber, um unanfechtbar zu werden, nothwendig der weiteren Bestätigung durch die Untersuchung des Harns von anderen Cystinpatienten. Diese Bestätigung ist doppelt erfolgt. Stadt-

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr., 1889, No. 16.

[2]) Berl. klin. Wochenschr., 1887, No. 44.

hagen und Brieger[1]) haben in 2 Fällen von Cystinurie gleichfalls Diamine gefunden. Nach einer weiteren soeben uns zugehenden Mittheilung[2]) derselben Autoren war in beiden Fällen ausschliesslich oder vorwiegend Pentamethylendiamin vorhanden.

Es ist somit als erwiesen zu erachten, dass die Ausscheidung von Diaminen ein feststehendes Symptom bei Cystinurie ist, und der weitere Schluss wird nahegelegt, dass die Cystinurie durch dieselbe Ursache erzeugt wird, welche die Diaminurie veranlasst.

Wir haben, um den merkwürdigen Zusammenhang dieser beiden Erscheinungen näher kennen zu lernen und dadurch die eigentliche Ursache der Cystinurie zu ermitteln, eine Reihe weiterer Versuche unternommen, über welche im Folgenden berichtet wird.

7. Ueber den Ort der Entstehung der Diamine im Organismus.

Nach den Untersuchungen Brieger's über die Bildung von Cadaverin und Putrescin bei der Fäulniss lag es am nächsten, in den Processen im Darm die Quelle jener Stoffe bei unserem Cystinpatienten zu suchen. Die Prüfung der Darmentleerungen desselben bestätigte diesen Schluss. Die Untersuchung der Fäces geschah nach folgendem Verfahren: Die Entleerungen von 24 Stunden wurden mit schwefelsäurehaltigem Alkohol digerirt; der Auszug wurde verdunstet, der Rückstand in Wasser gelöst, und die filtrirte Lösung wie früher benzoylirt. Dabei wurde eine reichliche Menge eines braun gefärbten Niederschlages erzielt, welcher durch Lösen in Weingeist und Fällen mit Wasser gereinigt wurde. Die Menge der so erzielten Krystalle betrug in einem Falle 0,3805 gr., vom Schmelzpunkt 173—174°. Durch einmaliges Umkrystallisiren aus Weingeist wurde vollkommen reines Benzoyl-Tetramethylendiamin erhalten. An demselben Tage betrug die

[1]) Arch. pathol. Anat., Bd. 115, Heft 3.
[2]) Berl. klin. Wochenschr., 1889, No. 16.

Ausscheidung der Diamine im Harn ungefähr 0,1 gr., welche zum grösseren Theil aus Pentamethylendiamin bestanden.

Während der letzten Beobachtungsperiode unseres Cystinpatienten im December 1888, also zu derjenigen Zeit, wo zum ersten Male die Diamine im Harn desselben nur in Spuren oder gar nicht nachweisbar waren, haben wir an 8 Tagen die Ausscheidung der Diamine in den Fäces genau ermittelt. In dieser Versuchsreihe sind die Benzoylverbindungen, welche aus den Darmentleerungen von 24 Stunden gewonnen waren, jedes Mal in die beiden Componenten zerlegt und diese einzeln bestimmt worden.

Die Ergebnisse dieser Analysen sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Datum.	Dibenzoyl-penta-methylen-diamin.	Freies Penta-methylen-diamin.	Dibenzoyl-tetra-methylen-diamin.	Freies Tetra-methylen-diamin.	Gesammt-menge der reinen Diamine.
Dec. 11.	0,0165 gr.	0,0054 gr.	1,546 gr.	0,4596 gr.	0,465 gr.
» 12.	0,0485 »	0,0159 »	1,5013 »	0,4463 »	0,4622 »
» 13.	0,0579 »	0,0190 »	1,3650 »	0,4058 »	0,4248 »
» 14.	0,1040 »	0,0342 »	1,4303 »	0,4252 »	0,4594 »
» 15.	0,2637 »	0,0867 »	1,2179 »	0,3621 »	0,4488 »
» 16.	0,0713 »	0,0234 »	1,4407 »	0,4283 »	0,4517 »
» 17.	0,0900 »	0,0296 »	1,9133 »	0,5678 »	0,5974 »
» 18.	0,0740 »	0,0243 »	1,4096 »	0,4191 »	0,4434 »

Die gewogenen Benzoylverbindungen wurden fortlaufend durch die Controle der Schmelzpunktbestimmungen geprüft.

Die vorstehenden Versuche zeigen, dass ca. $^1/_2$ gr. der beiden Diamine oder — unter Berücksichtigung der nicht zu vermeidenden Verluste — etwas mehr in den täglichen Darmentleerungen sich vorfanden.

Die relativen Mengen der beiden Diamine verhalten sich umgekehrt im Harn und in den Fäces. Im Harn betrug das Pentamethylendiamin in der Regel mehr als 60 %, in den Fäces nur 10—15 % der Gesammtausscheidung der Diamine. Dabei ist zu bemerken, dass während dieser letzten Beob-

achtungsreihe die Diamine im Harn mit Ausnahme von 1 Tage so gut wie ganz fehlten; an diesem Tage wurden aus dem Harn 0,091 gr. Benzoyldiamin gewonnen, welches aus fast reinem Benzoyltetramethylendiamin bestand. Wir haben uns wiederholt überzeugt (vergl. auch den Versuch S. 584), dass das Mengenverhältniss der Diamine in den Fäces ein ungefähr gleiches blieb, auch wenn die Ausscheidung des Pentamethylendiamins im Harn ihren höchsten Werth erreichte.

Diese Wahrnehmung steht wohl im Einklange mit der von Brieger constatirten Thatsache, dass, wo die Diamine sich bilden, zuerst das Pentamethylendiamin und erst später im weiteren Verlaufe der Fäulniss das Tetramethylendiamin auftritt. In unserem Falle liefert der jedenfalls schon im Dünndarm thätige Process der Diaminbildung wahrscheinlich vorwiegend Pentamethylendiamin; man hat sich wohl vorzustellen, dass bei dem weiteren Fortschreiten des Processes im unteren Theile des Darmrohres hauptsächlich Tetramethylendiamin gebildet wird, welches aus diesem Grunde sehr unvollständig zur Resorption gelangt.

Der Nachweis der Diamine im Darm unseres Cystinpatienten erhält aber seine besondere Bedeutung erst durch den Umstand, dass diese Körper unter normalen Verhältnissen im Darm des Menschen sich nicht finden.

Brieger fand, dass die Diamine in normalen Fäces fehlen. Wir können auf Grund einer Reihe eigener Versuche die Angabe Brieger's durchaus bestätigen. Weder im Darm vom Menschen, noch in dem vom Hunde sind diese Körper nachweisbar[1]).

Wir haben aber auch in den Darmentleerungen bei verschiedenen Erkrankungen keine Spur dieser Körper ermitteln können.

In einem Falle bei Darmverschluss, wo nach 8 Tagen die erste Entleerung erfolgte, war dieselbe — ebenso wie der Harn — frei von Diaminen.

---

[1]) Dabei ist es bemerkenswerth, dass Brieger (D. med. Wochenschrift, 1887, S. 469) die Bildung von Putrescin beobachtete, als er Bacterien aus normalem menschlichem Koth mit Gelatine zusammenbrachte.

Bei der Untersuchung von Typhusstühlen, welche in verschiedenen Stadien der Erkrankung bei 5 Personen ausgeführt wurde, erhielten wir sehr geringe Mengen einer krystallisirten Benzoylverbindung, welche aber von den früher beschriebenen Benzoylverbindungen verschieden war; dieselbe schmolz bei 140—142°. Wegen ihrer geringen Menge ist sie nicht weiter untersucht worden.

Der Darminhalt der Leiche einer Person, welche in Folge von tuberculösen Darmgeschwüren gestorben war, enthielt (18 Stunden nach dem Tode) keine Spur von Diaminen.

Das Vorkommen der Diamine in dem Darminhalt beschränkt sich somit nach den bisherigen Ermittelungen auf den von uns beobachteten Fall von Cystinurie. Dieses Resultat gewinnt ausserordentlich an Bedeutung dadurch, dass Brieger und Stadthagen in den beiden von ihnen untersuchten Fällen von Cystinurie gleichfalls Diamine in den Darmentleerungen vorfanden.

An ein zufälliges Zusammentreffen der Cystinurie und der Diamin-Bildung im Organismus ist nach Allem, was bis jetzt ermittelt worden ist, nicht mehr zu denken.

Die Diamine sind in dem von uns untersuchten Cystinfalle stets aufgefunden worden und zwar an ca. 50 Tagen, welche sich über ein Jahr vertheilen, im Harn des Cystinpatienten, an 7 Tagen fehlten sie im Harn so gut wie ganz, waren aber während dieser Zeit in der beträchtlichen Menge von ca. 0,5 gr. in den täglichen Darmentleerungen erhalten.

Ausser bei Cystinurie treten die Diamine nach den bisherigen Ermittelungen nur bei Cholera auf. Unser Cystinpatient war von dieser Krankheit nie befallen; derselbe hat vor einer Reihe von Jahren einen Typhus durchgemacht zu einer Zeit, wo seine Cystinurie wahrscheinlich noch nicht bestand. Wir halten es für sehr wohl möglich, dass die Diamine in der Folge noch bei der einen oder anderen Krankheit aufgefunden werden, glauben aber aus unseren bisherigen Erfahrungen schliessen zu dürfen, dass dieses Vorkommen jedenfalls immer ein sehr seltenes bleiben wird.

An irgend einen anderen Zusammenhang der Cholera und der Cystinurie als den, dass bei beiden Erkrankungen die Diamine durch Bacterien gebildet werden, ist zunächst jedenfalls nicht zu denken.

Auffällig ist, dass der spermatische Geruch der Diamine bei den frischen Reiswasserstühlen von Cholera oft bemerkt worden ist, ja dass ein solcher Geruch am Athem der Kranken wiederholt wahrgenommen wurde. Wir haben nie eine Spur dieses Geruches trotz der Gegenwart erheblicher Mengen von Diaminen in den Dejectionen unseres Cystinpatienten beobachtet.

Man kann sich leicht überzeugen, dass eine Lösung von Tetramethylendiamin von 1 : 1000 noch stark nach der freien Base riecht. Eine Erklärung, weshalb im vorliegenden Falle an den Fäces dieser Geruch nicht zu bemerken war, ergibt sich einfach aus dem Umstande, dass diese Entleerungen stets schwach sauer reagirten.

Dass der Diamingeruch auch beim alkalisch reagirenden Harn nicht bemerkbar war, wird theils auf die grössere Verdünnung der Diamine in demselben, theils durch die Gegenwart anderer riechender Stoffe erklärt.

Durch die mitgetheilten Versuche ist bewiesen worden, dass die Bildung der Diamine — ohne Zweifel durch die Gegenwart von Mikroorganismen — im Darm stattfindet. Die dort resorbirten Diamine werden im Harn mehr oder weniger vollständig ausgeschieden. Um den Verlauf dieser Ausscheidung genauer zu ermitteln, haben wir Fütterungsversuche mit Diaminen begonnen, über welche später berichtet werden wird.

8. Ueber die Darmfäulniss bei Cystinurie.

Der Umstand, dass der Harn unseres Cystinpatienten stets hellgelb gefärbt war, sprach schon dafür, dass im Darm keine vermehrte Bildung der normalen Fäulnissproducte stattfand.

Die weitere Prüfung ergab, dass weder die Indoxyl-, noch die Phenolausscheidung über die Norm gesteigert, sondern eher vermindert war.

Hierfür spricht besonders auch die Bestimmung der Aetherschwefelsäuren des Harns, welche an mehreren Tagen ausgeführt wurde. Wir verdanken die folgenden Werthe Herrn B. Mester, welcher die Ausscheidung der schwefelhaltigen Verbindungen im Harn unseres Patienten eingehend studirt hat.

1. Harn vom 3. Februar 1888. Harnmenge 1310 cbcm. Spec. Gew. 1,020.

50 cbcm. Harn gaben:

0,1407 gr. $BaSO_4$ aus Sulfaten (A),
0,0130 » » » Aetherschwefelsäuren (B),
0,270 » » » dem Gesammtschwefel.

$\frac{A}{B} = 10,8.$ Gesammtmenge der Aetherschwefelsäure im Harn von 24 Stunden = 0,141 gr. H_2SO_4.

2. Harn vom 21. Dec. 1887. 1150 cbcm. Spec. Gew. 1,017.

50 cbcm. Harn gaben:

0,1045 gr. $BaSO_4$ aus Sulfaten (A),
0,0145 » » » Aetherschwefelsäuren (B),
0,206 » » » dem Gesammtschwefel.

$\frac{A}{B} = 7,2.$ Gesammtmenge der Aetherschwefelsäure im Tagesharn = 0,140 gr. H_2SO_4.

3. Harn vom 18. Dec. 1888. 775 cbcm. Spec. Gew. 1,016 (Reaction alkalisch).

50 cbcm. Harn gaben:

0,130 gr. $BaSO_4$ aus Sulfaten (A),
0,020 » » » Aetherschwefelsäuren (B),
0,288 » » » dem Geasammtschwefel.

$\frac{A}{B} = 6,05.$ Gesammtmenge der Aetherschwefelsäure im Harn von 24 Stunden = 0,130 gr. H_2SO_4.

Die Aetherschwefelsäureausscheidung beträgt bei erwachsenen Menschen im Durchschnitt einer grösseren Reihe von Beobachtungen 0,2787 gr. H_2SO_4 bei Schwankungen von 0,094 bis 0,6175 gr. (R. v. d. Velden, Virchow's Archiv, Bd. 70, S. 343 ff.)

Dass der Quotient $\frac{A}{B}$ hier nicht die gewöhnliche Bedeutung besitzt, weil im Cystinharn die Ausscheidung der Schwefel-

säure erheblich vermindert ist[1]), braucht kaum besonders hervorgehoben zu werden. Dennoch ist dieses Verhältniss von der Norm kaum abweichend gefunden worden.

Die Versuche zeigen also, dass die die Diamine im Darm des Cystinpatienten bildenden Mikroorganismen nicht gleichzeitig die normal dort verlaufenden Fäulnissprocesse vermehren, und dass die Intensität der letzteren im vorliegenden Falle geringer als unter normalen Verhältnissen war.

9. Ueber die Bedingungen der Diamin-Bildung.

Unsere hierauf bezüglichen Untersuchungen sind noch nicht zu einem Abschlusse gelangt und können deshalb keinen Anspruch auf Vollständigkeit machen.

Aus den zahlreichen Beobachtungen Brieger's über das Auftreten der Diamine geht sicher hervor, dass diese Substanzen nur in Flüssigkeiten, in welchen gewisse Mikroorganismen sich entwickelten, gebildet werden, und dass die letzteren bei der Diaminbildung betheiligt sind.

Wir haben uns überzeugt, dass aus Pepton und Eiweiss bei der Destillation mit Aetzkali keine Spur dieser Stoffe gebildet wird, ebenso wenig entstehen Diamine bei der Zersetzung von Eiweiss durch Säuren.

Bis jetzt ist nur ein Stoffwechselproduct bekannt, welches seiner Zusammensetzung nach in naher Beziehung zu einem Diamin steht, das bei der Spaltung der Ornithursäure von Jaffé[2]) gewonnene Ornithin $C_5H_{12}N_2O_2$. Dieser Körper besitzt, wie Jaffé gezeigt hat, die Zusammensetzung einer Diamidovaleriansäure. Durch Abspaltung von Kohlensäure könnte dieser Körper ein Diamin von der Zusammensetzung des Tetramethylendiamins liefern. Der Eine von uns (v. Udránszky) hat, um diese Frage zu entscheiden, eine Quantität Ornithursäure dargestellt und wird demnächst über die bei der Spal-

---

[1]) E. Goldmann, diese Zeitschrift, Bd. IX, S. 267; Stadthagen. Virchow's Arch., Bd. 100, S. 435.

[2]) Ber. d. D. Chem. Ges., Bd. X, S. 1925, Bd. XI, S. 406.

tung des Ornithins erzielten Resultate an anderer Stelle berichten.

Brieger hat festgestellt, dass die Diamine bei der Fäulniss nur unter bestimmten Bedingungen entstehen. Wir haben die Beobachtungen Brieger's auch nach dieser Richtung durch eigene Versuche bestätigen können. Fauler Käse, alte Häringslake, brauner Leberthran[1]) und eben in Fäulniss übergegangener Caviar wurden mit negativem Ergebniss auf Diamine geprüft.

Brieger[2]) und Bocklisch[3]) geben übereinstimmend an, dass die Diamine in gefaulten Flüssigkeiten erst nach längerer Zeit auftreten. Da in solchen Massen stets Methylamin und Aethylamin sich finden, so ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass die Diamine durch einen unter gewissen Bedingungen verlaufenden Oxydationsprocess aus den Monaminen entstehen:

$$\begin{matrix} CH_3 . CH_2 . NH_2 \\ CH_3 . CH_2 . NH_2 \end{matrix} + 0 = \begin{matrix} CH_2 - CH_2 - NH_2 \\ | \\ CH_2 - CH_2 - NH_2 \end{matrix} + H_2O.$$

Auch Trimethylendiamin und Pentamethylendiamin könnten auf ähnliche Weise gebildet werden:

$$\begin{matrix} CH_3 . NH_2 \\ + CH_3 - CH_2NH_2 \end{matrix} + 0 = \begin{matrix} CH_2 . NH_2 \\ | \\ CH_2 . CH_2NH_2 \end{matrix} + H_2O$$

Trimethylendiamin.

Für die Prüfung dieser Hypothese ist jedenfalls zunächst der Nachweis erforderlich, dass eine solche Oxydation überhaupt möglich ist. Wir werden später auf diese Frage zurückkommen.

Sehr viel rascher als in faulenden Flüssigkeiten erfolgt die Bildung der Diamine in Culturen von Cholerabacillus. Brieger hat in diesen das Auftreten von Penta-

---

[1]) In diesem Producte sind neuerdings verschiedene basische Producte von Gautier nachgewiesen worden, welche ihre Entstehung wahrscheinlich einem Fäulnissprocesse verdanken.

[2]) Berl. klin. Wochenschr., 1887, No. 44.

[3]) D. Chem. Ges., Bd. XX, S. 1441.

methylendiamin in sehr erheblicher Menge schon nach 24 Stunden beobachtet, und die Annahme Brieger's, dass die Diamine in diesem Falle wirkliche Stoffwechselproducte der Cholerabacillen darstellen, ist ohne Zweifel wohl berechtigt.

Da die Bedingungen der Fäulniss im Darm des lebenden Menschen gleichmässiger sind, als wir sie ausserhalb des Körpers herstellen können, so ist die Möglichkeit ausgeschlossen, dass zufällige Umstände die Bildung der Diamine im Darm veranlassen. Es ist vielmehr ausserordentlich wahrscheinlich, dass Mikroorganismen besonderer Art als Producte ihres eigenen Stoffwechsels Diamine im Darmrohr auch bei den Cystinpatienten produciren. Und unsere bisherigen Beobachtungen, welche in der Hauptsache durch die übereinstimmenden Wahrnehmungen von Brieger und Stadthagen gestützt und bestätigt werden, legen wohl den Schluss nahe, dass die Cystin- und Diaminurie eine Infectionskrankheit sei.

Ist dieser Schluss richtig, so muss die Cystinurie mit ihren Begleitungen übertragbar sein.

Mehrere Versuche, welche hierüber angestellt wurden, haben bis jetzt kein positives Resultat ergeben, was bei den hierbei zu überwindenden Schwierigkeiten freilich noch nicht gegen die obige Annahme spricht.

Ueber die mit den Culturen aus dem Darminhalte des Cystinpatienten angestellten Versuche, welche noch nicht abgeschlossen sind, soll später berichtet werden.

Wir wollen schliesslich noch einige Punkte hervorheben, welche ein besonderes Interesse in Anspruch nehmen:

Wenn die Diaminbildung, wie es durchaus wahrscheinlich ist, im Darm des Cystinpatienten durch specifische Mikroorganismen bedingt ist, so haben unsere Untersuchungen den Nachweis erbracht, dass bestimmte Bacterien, wenn sie einmal in den Darm gelangt sind, dort lange Zeit — wenigstens 1 Jahr, vielleicht viel länger — sich mit den besonderen Eigenthümlichkeiten ihres Stoffwechsels erhalten können.

Von denjenigen pathogenen Bacterien, welche in dem Darm ihre dem Organismus verderbliche Ansiedelung bewirken, ist das Gegentheil bekannt: Die die Cholera, den Typhus etc. in den Darm des Menschen einführenden Bacterien verschwinden aus demselben, wenn die Krankheit überstanden wird, in kurzer Zeit wieder vollständig.

Das Pentamethylendiamin ist nach den Untersuchungen von Behring[1]), welcher an Mäusen, Kaninchen und Meerschweinchen experimentirte, ein — wenn auch erst in relativ grösserer Dosen tödtliches — Gift.

Scheuerlen[2]) und Fehleisen und Grawitz[3]) fanden, dass die genannte Base Entzündungen und Nekrose erregende Eigenschaften besitzt. Scheuerlen constatirte dieselbe Wirkung bei dem Putrescin (Tetramethylendiamin).

Auf Grund dieser und eigener Beobachtungen hat Brieger[4]) einen wesentlichen Theil der Erscheinungen, welche bei Cholera auftreten, und zwar nicht blos die localen Darmreizungen, sondern auch andere prägnante Symptome dieser Erkrankung, wie die Muskelkrämpfe und die Algidität, auf die Diamine zurückgeführt, wobei er wohl mit Recht dahingestellt sein lässt, in wie weit noch andere «Toxine» bei diesen Wirkungen betheiligt sind.

Im Hinblick auf obige Beziehungen ist es wichtig, anzuführen, dass bei unserem Cystinpatienten die Entleerungen zwar stets von breiartiger Consistenz waren, dass aber niemals bestimmte Anzeichen irgend einer Art von chronischer Darmreizung auftraten.

Wenn wirklich der ursächliche Zusammenhang der Diamine mit dem Krankheitsbilde der Cholera besteht, so ist wohl anzunehmen, dass die Diamine im Darm von Cholerakranken in noch viel grösserer Menge auftreten als bei der Cystinurie. Bezüglich der localen Wirkung der Diamine im

---

[1]) D. med. Wochenschrift, Bd. XIV, No. 24; 1888.

[2]) Jahresber. Thierchem., 1887, S. 491.

[3]) Virchow's Arch., Bd. CX, S. 1.

[4]) Berl. klin. Wochenschrift, 1887, No. 44.

Darm kann wohl ein wesentlicher Unterschied dadurch bedingt werden, dass in unserem Falle die Diamine im Darm in Form von Salzen sich fanden, während der Geruch der Choleraentleerung darauf hinweist, dass in diesem Falle die freien Basen auftreten, welche stark ätzend wirken.

Bevor man aber in diesen Fragen ein bestimmtes Urtheil abgeben kann, ist es wichtig, zu ermitteln, wie gross die Menge der Diamine in den Cholerastühlen ist, und welche Dosen dieser Stoffe beim Menschen Vergiftungserscheinungen hervorrufen können.

Die vorstehenden Untersuchungen führen, wie wir schon früher bemerkt haben[1]), zu einer völligen Aenderung der Auffassung der Cystinurie, sie geben aber noch keinen Aufschluss darüber, in welcher Weise die Cystinurie mit den Mikroorganismen, welche als Ursache der Diaminbildung anzusehen sind, zusammenhängt. Wir haben uns durch besondere Versuche davon überzeugt, dass im Darm, wo die Diaminbildung erfolgt, Cystin sich nicht vorfindet, eine gleichzeitige Production beider somit nicht stattfindet.

Gelingt es, diese Beziehungen genügend zu ermitteln, so werden daraus auch für die Behandlung der Krankheit selbst ganz bestimmte Schlüsse zu ziehen sein. Nachdem ein Weg hierzu aufgefunden worden ist, darf man wohl hoffen, dass er auch zum Ziele führen wird.

Freiburg i. B., April 1889.

---

[1]) D. Chem. Ges., Bd. XXI, S. 2749.



